

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**E.A.P DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**Evaluación del perfil hepático en recién nacidos  
prematuros que reciben nutrición parenteral en el  
H.N.E.R.M.**

**TESIS**

para optar al título profesional de Químico Farmacéutico

**AUTORA**

Elizabeth Natalia Bullón Zegarra

**ASESORAS**

Elena Benavides Rivera

María Ocaña Pacheco

**Lima – Perú**

**2010**

*Agradezco infinitamente a Dios por la vida,  
a mis padres por haberme enseñado lo  
valioso de la perseverancia y sentir mis  
sueños como suyos, a Luis y Cathy por su  
apoyo incondicional en toda mi carrera y ser  
mi razón de ejemplo y orgullo.*

*A mis amigos más queridos que durante  
siempre creyeron en mí y me dan aliento  
cuando las adversidades se avecinan, a la  
Dra. María Ocaña por su empuje y por  
enseñarme lo que es ser un investigador sin  
fronteras y a la Dra. Elena Benavides por sus  
valiosos aportes al presente estudio.*

*A aquellos profesionales Químicos  
Farmacéuticos brillantes, nuestros  
antecesores, que labraron un camino que los  
nuevos profesionales debemos continuar.*

**AGRADECIMIENTO ESPECIAL A LOS DISTINGUIDOS  
MIEMBROS DEL JURADO EXAMINADOR Y  
CALIFICADOR:**

**Dra. Q.F. María Elizabeth González Loayza**

Presidente

**Dr. Q.F. Juan Manuel Parreño Tipian**

Miembro

**Q.F. Teófila Haydee Zúñiga Cáceres**

Miembro

**Q.F. Gustavo Guerra Brizuela**

Miembro

# ÍNDICE

Abreviaturas

Resumen

Abstract

1. Introducción	Pág.1
2. Generalidades	
2.1 Prematuridad	Pág.3
2.2 Nutrición Parenteral	Pág.5
2.3 Requerimientos nutricionales en recién nacidos	Pág.8
2.4 Complicaciones de la nutrición parenteral	Pág.17
2.5 Fisiología Hepática y biliar	Pág.18
2.6 Efectos de la nutrición parenteral en el recién nacido	Pág.24
3. Parte Experimental	
3.1. Determinación de peróxidos en mezclas de nutrición parenteral	Pág.32
3.2. Análisis de marcadores hepáticos en recién nacidos prematuros	Pág.36
4. Resultados	Pág.42
5. Discusión	Pág.60
6. Conclusiones	Pág.64
7. Recomendaciones	Pág.65
8. Referencias bibliográficas	Pág.66

ANEXOS

## ABREVIATURAS

AGCL	Ácidos grasos de cadena larga
BD	Bilirrubina directa
BT	Bilirrubina Total
CNP	Calorías no Proteicas
EROs	Especies Reactivas del oxígeno
EVA	Etilvinilacetato
FIV	Fluidos intravenosos
GGT	Gamma glutamil transferasa
HNERM	Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins
IV	Intravenoso (a)
LPXs	Lipoperóxidos
MDA	Malondialdehído
mg/L	Miligramos por Litro
MVI	Multivitaminas
N	Nitrógeno
NE	Nutrición enteral
NMx	Nutrición Mixta
NP	Nutrición parenteral
NPT	Nutrición parenteral total
OMS	Organización mundial de la Salud
P	Probabilidad
PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados
$r^2$	Coefficiente de correlación
RNPT	Recién nacido pre término
RNT	Recién nacido a término
TBARs	Reactivos del ácido tiobarbitúrico
TGO/ASAT	Aspartato amino transferasa /Transaminasa glutámica oxalacética
TGP/ALAT	Alanina amino transferasa /Transaminasa glutámico pirúvica
$\mu\text{mol/L}$	Micro moles por litro
vs	versus
$\pm$	más o menos

## **RESUMEN**

Se determinaron cuantitativamente los marcadores bioquímicos hepáticos: Transaminasa glutámica oxalacética (TGO), Transaminasa glutámico pirúvica (TGP), bilirrubina total (BT), bilirrubina directa (BD) y gamma glutamil transferasa (GGT) para evaluar los efectos de la nutrición parenteral en la función hepática de recién nacidos prematuros mayores de 27 semanas y menores de 37 semanas en la unidad de Neonatología del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Treinta recién nacidos pre término fueron evaluados antes de iniciar la nutrición parenteral (nivel basal =*con NP1*), a los 7±2 días de iniciada la nutrición parenteral (*con NP2*), al momento de la suspensión de la nutrición (*sin NP1*) y finalmente a los 7±2 días de suspendida la nutrición parenteral (*sin NP2*).

En la evaluación del perfil hepático, se encontró los siguientes valores: TGO= 28,63 UI; TGP= 7,37 UI; BT=9,03 UI; BD=0,845 UI; GGT= 110,41 U durante el periodo de administración de NP y los siguientes valores: TGO= 28,73 UI; TGP= 10,53 UI; BT= 6,36 UI; BD= 1,35 UI; GGT= 128,38 UI durante el periodo sin NP. Se encontró diferencias estadísticamente significativas para TGO, TGP y GGT entre los niveles basales versus los niveles a los 7±2días del periodo de administración de NP y diferencias significativas para TGP, BT, entre los niveles basales versus los niveles a los 7±2días del periodo sin NP. Cuando se comparó las medias de los marcadores hepáticos globales (con NP y sin NP) se encontró una diferencia estadísticamente significativa en TGP, BT y BD con una correlación de Pearson significativa sólo en BT y GGT.

También se determinó la presencia de peróxidos en mezclas de nutrición parenteral encontrándose: 299,87; 155,11; 212,92 y 284,55 µmoles a las 0, 5, 18 y 24 horas de la mezcla respectivamente, en mezclas de NP foto expuestas y 278,01; 142,28; 183,39 y 258,58 µmoles a las 0, 5, 18 y 24 horas respectivamente en mezclas de NP foto protegidas. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas de peróxidos globales (NP foto expuesta y NP foto protegida) en los tiempos 0h-5h, 0h-18h, 5h-24h y 18-24h. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas de peróxidos entre las mezclas de NP foto expuestas y foto protegidas.

*Palabras claves: Nutrición parenteral, marcadores bioquímicos hepáticos (TGO, TGP, BT, BD, GGT, peróxidos, foto exposición, foto protección.*

## **ABSTRACT**

We have done the quantitative determinations of hepatic markers: Glutamic oxalacetic transaminase (GOT), Glutamic pyruvic transaminase (GPT), total bilirubin (TB), direct bilirubin (DB) and Gamma glutamyltransferase (GGT) to evaluate the effect of parenteral nutrition in the hepatic function of preterm infants from 27 to 37 weeks in the Neonatology unit of Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Thirty preterm infants were evaluated before parenteral nutrition started (baseline levels), in  $7 \pm 2$  days from initiation of parenteral nutrition, on the day of suspension of parenteral nutrition ( $0 \pm 2$  days) and finally in the  $7 \pm 2$  days of suspension of parenteral nutrition.

Regarding the hepatic evaluation, we found the following hepatic markers values in the PN administration period: GOT= 23,63 UI; GPT= 7,37 UI; TB= 9,03 UI; DB= 0,845 UI; GGT= 110,41 UI and the following values in the period of absence of parenteral nutrition: GOT= 28,73 UI; GPT= 10,53 UI; TB= 6,36 UI; DB= 1,35 UI; GGT= 128,38 UI. There are significant differences for GOT, GPT and GGT when baseline levels are compared against values from  $7 \pm 2$  days during the PN administration period. There are significant differences for GPT, TB when we compared baseline levels versus levels at  $7 \pm 2$  days during the period of absence of PN. When we compared the different hepatic markers means globally, we found significant difference in GPT, TB, DB, with a Pearson's correlation only in TB and GGT.

We performed an extra research for this study. It was determined the presence of peroxides in parenteral nutrition mixtures. We found the following concentration means for peroxides in the photo exposed PN mixtures: 299,87; 155,11; 212,92; 284,55  $\mu\text{mol}$  at 0, 5, 18 y 24 hours from the mixture, and the following concentration means for photo protected PN mixtures: 278,01; 142,28; 183,39; 258,58  $\mu\text{mol}$  at 0, 5, 18 y 24 hours respectively. Significant differences regarding global peroxides (PN photo exposed and PN photo protected) were found in 0h-5h, 0h-18h, 5h-24h, 18-24h. We did not find significant differences of peroxides between PN photo exposed and PN photo protected mixtures.

*Key words: Parenteral nutrition, hepatic markers (GOT, GPT, TB, DB, GGT) peroxides, photo protection, photo exposure.*

## I. INTRODUCCIÓN

Los efectos de la nutrición parenteral han sido estudiados en modelos animales<sup>14</sup> demostrando que el peróxido de hidrógeno afecta el metabolismo oxidativo del hígado neonatal, por un posible mecanismo de inhibición de la *ATP sintetasa*. Así mismo en modelos humanos<sup>15, 16</sup>, se demuestra el compromiso hepático luego de la nutrición parenteral prolongada evidenciado por la morfología de los hepatocitos, daño de organelas y niveles elevados de GGT durante la nutrición parenteral y la relación cercana entre estrés oxidativo y daño hepático.

Cada constituyente de la nutrición parenteral representa una potencial fuente de oxidantes. Existe una amplia variedad de nutrientes que pueden promover la peroxidación; Elementos como lípidos<sup>1,2</sup>, aminoácidos<sup>1, 3, 4</sup>, vitaminas<sup>5, 6</sup>, elementos trazas<sup>7</sup> y aditivos<sup>8</sup> usados para la estabilidad de la mezcla<sup>9</sup> pueden formar productos denominados peróxidos. Los peróxidos infundidos pueden causar estrés oxidativo *per se* o pueden ser convertidos a radicales libres en presencia de elementos trazas<sup>7</sup>. In Vitro, estas sustancias reactivas pueden alterar la integridad celular y dar como resultado efectos perjudiciales en diferentes órganos<sup>10</sup>.

Los peróxidos como el peróxido de hidrogeno se generan por exposición de la NPT a la luz<sup>9, 2</sup>. En presencia de la luz, la preparación multivitamínica parenteral es el sitio perfecto de reacciones entre el oxígeno y donadores de electrones, que resultan en la formación de peróxidos. Los efectos de estos productos han sido vinculados a esteatosis hepática<sup>11</sup>, fibrosis<sup>12</sup>, y colestasis<sup>30</sup>. Al respecto, investigaciones recientes han demostrado que los multivitamínicos parenterales causan alteraciones y cambios en el flujo biliar que caracteriza a la colestasis<sup>13</sup>.

En el presente estudio se realizó un trabajo de campo para determinar la concentración de peróxidos en las mezclas de nutrición parenteral y establecer su relación con la foto exposición y foto protección de la mezcla. De esta manera se evidencia la presencia de los posibles agentes causales de daño hepático. Esta última información colabora con el objetivo principal del presente estudio: Determinar la relación existente entre los



marcadores hepáticos en recién nacidos prematuros que reciben nutrición parenteral frente a los que no la reciben por medio de la cuantificación de marcadores hepáticos.

**Hipótesis:**

- Las mezclas de nutrición parenteral alteran los marcadores hepáticos: transaminasas hepáticas, bilirrubina total y directa en recién nacidos pre término en el periodo de  $7 \pm 2$  días de administración de nutrición parenteral.

## II. GENERALIDADES

### Términos claves:

**Terapia intravenosa (IV)** Es un tipo de terapia para la cual los servicios de farmacia hospitalaria tienen funciones prioritarias a cumplir. Estas funciones abarcan desde la preparación y dispensación de las mezclas intravenosas prescritas por los médicos, hasta el seguimiento y control de la terapéutica por el equipo de salud. **Mezclas intravenosas (MIV)** se refiere a las preparaciones extemporáneas que se obtienen a partir de la incorporación de medicamentos para uso intravenoso (aditivo) a envases que contienen disoluciones para soluciones intravenosas (vehículo). De igual manera, se puede definir como la mezcla de uno o más principios activos disueltos o en suspensión en un vehículo idóneo. Las mezclas de nutrición parenteral podrían considerarse MIV; sin embargo, debido a su especificidad, mayor complejidad, requerimiento de mayores conocimientos de nutrición básica y exigencias de mayor precaución son consideradas otro tipo de servicio farmacéutico<sup>27</sup>. Cabe resaltar que se consideran **Fluidos intravenosos (FIV)** a los vehículos ejemplos: Cloruro de sodio al 0.9 %, dextrosa al 5 %, y aditivos a los medicamentos en disolución<sup>27</sup>.

### 2.1. PREMATURIDAD

La OMS define a un recién nacido pre término como todo aquel nacido antes de las 37 semanas cumplidas (259 días). Sin embargo, la Academia Americana de Pediatría propone el límite a aquel recién nacido menor de 38 semanas. Esto último por el reconocido mayor riesgo de patologías entre las 37 y 38 semanas.

Se considera parto inmaduro aquel ocurrido entre las 21 y 28 semanas de gestación<sup>68</sup>. El grupo de recién nacidos con peso menor de 1500 gramos, catalogados como recién nacidos de muy bajo peso al nacer, han sido el punto crucial para el avance en la medicina perinatal y en el conocimiento de la patogenia de patologías prevalentes en este grupo de prematuros.

Los recién nacidos con peso entre 500 y 1500 gramos contribuyen a la morbilidad y mortalidad perinatal a pesar de representar sólo el 1-1,5 % del total de partos.

*Clasificación de los recién nacidos:*<sup>69</sup>

- Según el peso al nacer
- Según la edad gestacional
- Según la relación peso de nacimiento y edad gestacional.

*Clasificación por el peso al nacer:*<sup>69</sup>

- Recién nacido de peso elevado: Peso superior a 4000 gramos
- Recién nacido de peso promedio: Peso entre 2500 y 3999 gramos
- Recién nacido de bajo peso (RNBP): Peso inferior a los 2500 gramos

*Clasificación por Edad Gestacional:*<sup>69, 71</sup>

La Organización Mundial de la Salud con el apoyo de otros grupos científicos estableció lo siguiente:

- Recién Nacido Prematuro Pretérmino: Edad gestacional menor a 37 semanas (es decir 36 semanas 6 días, antes de los 259 días)
- Recién nacido a término: Edad gestacional comprendida entre las 37 y 41 semanas (hasta 41 semanas y 6 días, desde los 259 días hasta antes de los 294 días)
- Recién nacido Post término o Post maduro: Edad gestacional mayor o igual a 42 semanas (294 días a más)

*Clasificación del recién nacido según su peso al nacer y edad gestacional:*

La academia americana de pediatría recomendó clasificar a todos los neonatos según su peso de nacimiento, edad gestacional y alguna norma para el crecimiento intrauterino<sup>17</sup>.

- Pequeño para edad gestacional (PEG): Se ubica debajo del percentil 10.
- Adecuado para la edad gestacional (AEG): Se ubica entre el percentil 10 y 90.
- Grande para edad gestacional (GEG): Se ubica por encima del percentil 90.



*Figura 1. Recién nacido pre término en incubadora*

## **2.2. NUTRICIÓN PARENTERAL**

La nutrición parenteral es un procedimiento de apoyo nutricional que consiste en la administración de soluciones de nutrientes por vía endovenosa en cantidad y proporciones suficientes para cubrir total o parcialmente los requerimientos nutricionales del organismo, cuando la nutrición enteral no es posible o es insuficiente<sup>28</sup>. Es un método aceptado para la prevención o corrección de la malnutrición en pacientes cuyo tracto gastrointestinal no funciona adecuadamente<sup>29</sup>. Puede ser definido como la provisión de la nutrición en relación a los requerimientos metabólicos y de crecimiento que se administran por una ruta parenteral<sup>30</sup>.

A diferencia de la nutrición parenteral en el adulto, la estandarización en el infante es poco frecuente. La individualización de la prescripción asociada a un buen programa informático que traduzca los gramos de glucosa, lípidos y aminoácidos en volúmenes

de diferentes soluciones garantiza la idoneidad de los aportes, con un bajo porcentaje de errores<sup>31</sup>.

**Tabla 1. Requerimientos para prematuros<sup>32</sup>**

<b>RECOMENDACIONES DEL GRUPO DE CONSENSO INTERNACIONAL<sup>32</sup></b>	
Energía	110-120 Kcal/ Kg/ día
Proteínas	3-3,8 Kcal/ Kg/ día
Grasa	4,5-6,8 Kcal/ Kg/ día
Calcio	120-230 mEq/ Kg/ día
Fósforo	60-140 mEq/ Kg/ día

### **2.2.1. Indicaciones**

Además de estar indicado en pacientes con imposibilidad de la vía enteral, también se incluye la indicación a pacientes con<sup>33</sup>:

- Tracto intestinal no funcionante
- Imposibilidad de utilizar el tracto gastrointestinal
- Obstrucción intestinal total
- Peritonitis
- Vómito incoercible
- Diarrea grave originada en el intestino delgado
- Íleo grave del intestino delgado.
- Fístula enterocutánea de alto flujo
- Síndrome de intestino corto
- Malabsorción grave.

### **2.2.2. Contraindicaciones para la nutrición parenteral**

La nutrición parenteral es apropiada cuando los pacientes no pueden ingerir y absorber suficientes nutrientes por vía oral o mediante alimentación enteral por sonda; cuando no

se puede definir claramente un objetivo para la terapia, cuando existe inestabilidad hemodinámica o para prolongar la vida de un paciente terminal.

La nutrición parenteral está contraindicada en todos los casos en que sea posible mantener la nutrición enteral en un 80 % de las necesidades nutricionales<sup>33</sup>.

### **2.2.3. Tipos de nutrición parenteral (de acuerdo a preparación)**

#### Sistema de envases múltiples

Este sistema permite la administración en paralelo y simultáneo o en forma secuencial de mezclas de aminoácidos, dextrosa y lípidos en diferentes concentraciones <sup>33</sup>.



A esta mezcla se agregan consecutivamente los minerales, vitaminas y oligoelementos necesarios. Este sistema presenta ventajas como sistema de acceso y uso rápido y múltiples desventajas como errores en la mezcla de productos, incompatibilidades químicas, formación de precipitados y riesgo de contaminación<sup>33</sup>.

### Sistema todo en uno (3 en 1)

Un sistema de este tipo implica que todos los componentes estén mezclados en un solo contenedor. Se utilizan generalmente bolsas de etil-vinil-acetato (EVA) o de polímeros de polietileno/polipropileno.

Las ventajas de este método son la mejor utilización y asimilación de los nutrientes, facilidad de administración, menores costos y menor riesgo de complicaciones por manipulación de personal<sup>33</sup>.

## **2.3. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES EN RECIÉN NACIDOS**

### **2.3.1. Alimentación del niño pre término**

El objetivo principal es procurar simular el ritmo del crecimiento intrauterino y la composición corporal, aunque exista alguna controversia, es útil tomar en cuenta el concepto como marco de referencia. Es necesario tomar en cuenta que a partir de las 28 semanas de gestación, el estómago se encuentra suficientemente desarrollado en cuanto a superficie de absorción y motilidad.

La lactasa es una enzima de aparición tardía en la vellosidad intestinal, ya que su actividad máxima se presenta alrededor de las 34 a 35 semanas de gestación, mientras que las demás enzimas que metabolizan otros azúcares diferentes de la lactosa están presentes desde los 6 meses de gestación. En el caso de las grasas debe recordarse, que si no fuese por la presencia de la lipasa lingual, la eliminación de las grasas sería más acentuada que la que se propicia por la deficiencia de lipasa pancreática y la disminución de las sales biliares. En el niño a término, el porcentaje de absorción de lípidos es de 90 %, mientras que en el prematuro es de 68 %<sup>32</sup>.

Se considera que la leche humana de mujeres que tuvieron un parto prematuro se adapta bastante bien a las necesidades de estos niños, a excepción de su contenido de calcio y fósforo, que es bajo después de la segunda semana de haber nacido el RN pre término, y deberá complementarse para evitar el raquitismo u osteopenia<sup>32</sup>.

### **2.3.2. Fluidos y requerimientos de energía**

La nutrición parenteral es una parte fundamental del cuidado neonatal<sup>37, 43</sup>. El volumen de ingreso varía desde 60 a 150 mL/ Kg por día, dependiendo de la madurez del infante y de las condiciones ambientales que influyen la pérdida sensible de agua a través de la piel. Una ingesta de 50 kcal/ Kg por día es adecuada para suplir los requerimientos del organismo, sin embargo una ingesta de 70 Kcal/Kg por día es requerida para lograr un óptimo crecimiento. La distribución de las calorías debe ser 60 % de carbohidratos, 10-15 % de proteínas y 30 % de lípidos. La dextrosa al 10 % en solución provee 0,34 Kcal/ mL, una solución lipídica al 10 % provee 0,9 Kcal/ mL. A pesar que las proteínas son un sustrato de energía esencial, éstas deben ser utilizadas sólo para el crecimiento de tejidos. La glucosa y los lípidos pueden proveer suficientes calorías para evitar el catabolismo de proteínas. Un infante pre término necesita de 100 a 150 Kcal/ Kg por día, mientras que un neonato a término necesita de 100 a 120 Kcal/ Kg por día.

Los requerimientos basales de un niño pre término son de 40 Kcal/ Kg/ día cuando el niño se nutre por vía parenteral, y para mantener una cifra de crecimiento semejante en útero (15 g diarios) se requiere un gasto de 45 a 67 Kcal por arriba de los requerimientos basales. Así, los requerimientos totales se calculan de 90 a 120 Kcal/ Kg/ día, pero a éste habrá que agregarle el factor de estrés. Hay situaciones que pueden aumentar las necesidades de energía en 50 % o más, como sucede en la sepsis, el síndrome de dificultad respiratoria y la cardiopatía congénita<sup>69</sup>.

### **2.3.3. Requerimientos proteicos**

El propósito de administrar proteínas es limitar el catabolismo, mantener los depósitos endógenos de proteínas y proveer suficiente energía y proteína para el adecuado crecimiento. Los requerimientos de nitrógeno parenterales son de 30-35 mmol/ Kg por día lo que es equivalente a 3-3,5 mg/ Kg de aminoácidos por día. Estas soluciones contienen 9 aminoácidos esenciales; cisteína, tirosina, taurina, y arginina como aminoácidos semi esenciales. En la ausencia de una fuente exógena de proteínas un infante prematuro cataboliza 1g/ Kg de su propia proteína corporal por día para suplir las necesidades metabólicas. El exceso en la administración de proteínas causa un aumento en la urea sanguínea y altos niveles tóxicos de amoníaco y fenilalanina<sup>44</sup>.



Se recomienda iniciar en los niños prematuros a razón de 0,25 g/ Kg/ día y en el recién nacido de término con 0,5 g/ Kg/ día, e incrementar diariamente medio gramo por kilogramo de peso hasta llegar a cubrir los requerimientos, que llegan a ser de 3 a 4 g/ Kg/ día.

La máxima cantidad de calorías proteicas a administrar es de 15 %. Los aminoácidos de la nutrición parenteral proporcionan 4 Kcal/ g. Dado que el nitrógeno representa el 16 % del peso de la proteína, se puede calcular el nitrógeno en una solución de nutrición parenteral dividiendo entre 6,25 los gramos de proteínas por litro<sup>44</sup>.

Para la utilización efectiva del nitrógeno se deben administrar cantidades adecuadas de kilocalorías no proteicas. Sin un suministro adecuado de energía procedente de la dextrosa (y de emulsiones de lípidos en caso de utilizarlos), los aminoácidos serán catabolizados para que suministren carbono para la oxidación y la mitad del nitrógeno será excretada en vez de ser utilizada para la síntesis de los tejidos. Aunque la relación óptima entre kilocalorías no proteicas y nitrógeno (CNP: N) varía dependiendo de cada caso individual, una relación de 150:1 satisface las necesidades de la mayoría de los pacientes estables<sup>33</sup>.

Un requerimiento mínimo proteico de 1,7 g/ 100 Kcal (ejemplo: Nitrógeno total x 6,25) y una cantidad máxima total de proteínas de 3,4 g/ 100 Kcal en las fórmulas infantiles son recomendadas<sup>34, 35</sup>. El contenido máximo proteico de 4,5 g/ 100 Kcal es muy alto debido a que no existe razón fisiológica para suministrar a este nivel.

La leche materna contiene dos fuentes primarias de proteína: caseína y proteína de suero<sup>34, 35</sup>. Ha sido reportado que la leche materna contiene proteína de suero / caseína en un relación de 9/1 a 6/4 en diferentes periodos de lactancia. Sin embargo, la mayoría de las formulas del mercado para infantes contienen proteína de suero/caseína en una relación de 6/4 a 4/6<sup>34, 35</sup>.

La nutrición parenteral puede suplir los requerimientos de crecimiento y desarrollo cuando se encuentran afectadas las condiciones de nutrición enteral. A pesar que la alimentación enteral es la ruta preferida para el manejo nutricional, existen condiciones específicas para la cual la nutrición parenteral como única terapia o adjunto es necesario. En recién nacidos de muy bajo peso, la nutrición enteral no puede ser

establecida en los primeros días de vida debido a la inmadurez del sistema gastrointestinal. La nutrición parenteral puede cubrir satisfactoriamente las demandas en recién nacidos críticos, neonatos con diarrea continua y en aquellos sometidos a grandes cirugías<sup>35</sup>.

Algunas preparaciones contienen un mayor porcentaje de aminoácidos esenciales (50 %- 60 %) y que incluyen cisteína, taurina y una mayor cantidad de tirosina, histidina, ácido glutámico y ácido aspártico, a la vez menor cantidad de metionina, glicina y fenilalanina que pueden ser neurotóxicas para los RN prematuros y permiten obtener el perfil plasmático similar al de los niños alimentados con leche materna<sup>28</sup>.

Un Aporte insuficiente de proteínas puede producir falta de crecimiento, hipoalbuminemia y edema. El exceso puede provocar hiperamonemia, un desequilibrio de los aminoácidos séricos, acidosis metabólica e ictericia colestásica. La incorporación temprana de aminoácidos a la NP también estimula la secreción de insulina endógena. Los RN de bajo peso al nacer pierden 1 % de proteínas endógenas por día a menos que reciban un suplemento<sup>69</sup>.

**Figura 2. Elementos utilizados en nutrición parenteral**



#### **2.3.4. Requerimientos de carbohidratos**

La Glucosa es el carbohidrato de vía intravenosa de más amplio uso para los neonatos debido a que es el más biodisponible para el cerebro. Es importante balancear las calorías no proteicas entre los carbohidratos y lípidos en una relación recomendada de 2:1. El exceso del uso de la glucosa puede resultar en lipogénesis, exceso de producción de CO<sub>2</sub> e hiperglicemia que puede desencadenar en diuresis osmótica. La hiperglicemia durante la nutrición parenteral puede ser disminuida empezando con una infusión de glucosa a un ritmo de 4-6 mg/ Kg/ min (6-8 g/ Kg por día) con un incremento progresivo a 12-15 mg/ Kg por min (16-20 g/ Kg por día) por 2 a 3 semanas después del nacimiento<sup>37, 43</sup>.

El uso de glucosa como única fuente no proteica de energía plantea algunos problemas: A concentraciones mayores de 13 g/ dL, la glucosa produce irritación de las vías periféricas; así mismo, los prematuros presentan intolerancia a la glucosa en los primeros días de vida y a menudo ocurre hiperglicemia cuando la velocidad de infusión de glucosa es mayor a 6 mg/ Kg/ min.

#### **2.3.5. Requerimientos de lípidos**

Los lípidos son la mayor fuente de energía no proteica y tienen el efecto liberador de nitrógeno. Las grasas endovenosas provienen de la emulsificación de aceites esenciales (linoléico y araquidónico)<sup>33</sup>.

Los lípidos por vía parenteral son introducidos en el recién nacido en dosis de 0,5 a 1g/ Kg/ día<sup>32</sup>, y gradualmente incrementados a 3g/ Kg/ día, administrado en infusión continua. Se pueden utilizar mezclas de lípidos de cadena larga y cadena media en lugar de una emulsión exclusiva de cadena larga en neonatos críticos a pre término debido a que la mezcla de lípidos de diferentes cadenas se metaboliza más fácilmente<sup>37, 43</sup>.

Las emulsiones de lípidos se encuentran en concentraciones de 10, 20 o 30 % y proveen 1,1; 2 o 3 Kcal/ mL respectivamente. Estas emulsiones proporcionan sólo ácidos grasos de cadena larga (AGCL) o una combinación de éstos y ácidos grasos de cadena media y son una fuente rica en ácido linoleico y linolénico, incluyen además los fosfolípidos del

huevo como un agente emulsificante y el glicerol hipertónico para prevenir que la solución final sea hipotónica<sup>63</sup>.

Respecto a su estabilidad y compatibilidad en relación a los demás nutrientes se puede decir que la inestabilidad termodinámica de las emulsiones, representada por el llamado potencial Zeta (Z) o electrocinético, exige atención constante para no originar la separación de fases: las causas son las interacciones iónicas y los cambios bruscos de pH<sup>63</sup>.

Para la NP, el diámetro de las micelas de lípidos de las emulsiones varía entre 0,4 y 1,0  $\mu\text{m}$  (<quilomicron): En tanto mayor sea el tamaño de estas micelas, mayor es la probabilidad de dislocamiento teniendo como consecuencia, la agregación o floculación, formación de crema sobrenadante, la coalescencia y la ruptura final con separación de sus componentes<sup>63</sup>.

Es importante respetar la temperatura y tener cuidado con ambientes mayores de 25 °C de temperatura, con incubadoras, fototerapia, monitores y uso de estas soluciones en pacientes febriles por tiempo prolongado. La exposición a la luz (fototerapia) produce hidroperóxido lipídico (LOOH), resultado de la peroxidación de los lípidos que puede tener efectos nocivos como: inactivación de la proteína surfactante C<sub>10</sub>, formación del ión superóxido en los neutrófilos, estimulación de la síntesis de leucotrienos y prostanoïdes vasoconstrictores y aumento de la respuesta inflamatoria. Además, los recién nacidos pre término, pequeños para la edad gestacional tienen mayor dificultad para hidrolizar los lípidos por la deficiencia de las enzimas lipolíticas lipasa lipoproteica (LPL) y colesterol ACR transferasa<sup>63</sup>.

### **2.3.6. Minerales, elementos trazas y vitaminas**

Los minerales, elementos trazas administrados a través de la nutrición parenteral, son calcio, magnesio, fósforo, acetato, cloruro, potasio y sodio en cantidades suficientes para suplir los requerimientos del crecimiento intrauterino. Para facilitar el suministro de los electrolitos apropiados, el sodio y el potasio están disponibles como derivados del cloruro y acetato; el fosfato está disponible como derivado del sodio o del potasio: el magnesio se suministra normalmente como sulfato de magnesio; y el calcio está disponible como gluconato de calcio. Los niveles de sodio, potasio, magnesio y fósforo necesitan estar cercanamente monitorizados y las prescripciones de los mismos acorde

con los ritmos de infusión. La dosis de vitaminas hidrosolubles y liposolubles por Kg / día deben ser agregadas a la solución de emulsión de lípidos<sup>67, 43</sup> y/o glucosa y electrolitos y están descritas en la tabla 4.

Una consideración importante al agregar los electrolitos a la nutrición parenteral es la solubilidad del fosfato de calcio. Estos electrolitos pueden formar precipitados en la solución de la nutrición parenteral que pueden causar la muerte<sup>33</sup>.

Para un recién nacido que no tenga importante disfunción hepática, cardiovascular o renal, generalmente la recomendación de Na<sup>+</sup> o K<sup>+</sup> es de 2 a 4 mEq/ Kg/ día. Por supuesto que la administración de sodio se reduce u omite en pacientes con insuficiencia cardíaca, insuficiencia renal o hepática y por el contrario las demandas pueden estar aumentadas en pacientes con pérdidas anormales, por ejemplo en niños con fístulas entero cutáneas o enterostomías de alto gasto<sup>32</sup>.

Independientemente de la dosificación, las soluciones vitamínicas deberían agregarse inmediatamente antes de la administración de la infusión de la nutrición parenteral para minimizar pérdidas debidas a la luz y/o a la adsorción de las vitaminas a la bolsa de nutrición parenteral y a la sonda.

**Tabla 2. Recomendaciones de electrolitos y minerales para niños en nutrición parenteral<sup>28</sup>.**

<b>Sodio</b>	2,0 – 4,0 mEq /Kg
<b>Potasio</b>	2,0 – 3,0 mEq /Kg
<b>Cloro</b>	2,0 – 3,0 mEq /Kg
<b>Acetato</b>	1,0 – 4,0 mEq /Kg
<b>Magnesio</b>	0,25 – 0,5 mEq /Kg
<b>Gluconato de calcio :</b>	
• Recién nacidos	300 – 500 mg / Kg (1,5 – 2,5 mEq)
• Lactantes y niños	100 – 200 mg / Kg (0,5 – 1,0 mEq)
• Adolescentes	50 – 100 mg / Kg (0,3 – 0,5 mEq)
<b>Fosfato:</b>	
• RN y lactantes	1,0 – 2,0 mg / Kg
• Niños y adolescentes	0,5 – 1,0 mg / Kg

**Tabla 3. Aportes diarios de elementos traza en nutrición parenteral<sup>28</sup>.**

<b>Zinc</b>	
• Prematuros	400 µg/ Kg
• Lactantes < 3 meses	250 µg/ Kg
• Lactantes > 3 meses	100 µg/ Kg
• Niños mayores	50 µg/ Kg
<b>Cobre</b>	20 µg/ Kg
<b>Cromo</b>	0.2 µg/ Kg
<b>Manganeso</b>	1.0 µg/ Kg
<b>Selenio</b>	2.0 µg/ Kg

**Tabla 4. Aportes diarios de vitaminas en nutrición parenteral<sup>32</sup>**

<b>VITAMINA</b>	<b>Recién nacido a término y pre término (Cantidad/ kg/ día)</b>
<b>Vitamina A</b>	280 µg
<b>Vitamina E</b>	2.8 mg
<b>Vitamina K</b>	80 µg
<b>Vitamina D</b>	4 µg
<b>Acido ascórbico</b>	25 mg
<b>Vitamina B1 - Tiamina</b>	0.48 mg
<b>Vitamina B2- Riboflavina</b>	0.56 mg
<b>Vitamina B6 – Piridoxina</b>	0.4 mg
<b>Niacinamida</b>	6.8 mg
<b>Ac. Pantoténico</b>	2 mg
<b>Biotina</b>	8 µg
<b>Folato</b>	56 µg
<b>Vitamina B12 - Cianocobalamina</b>	0.4 µg

**Tabla 5. Guía para la administración parenteral de nutrientes básicos en el niño recién nacido a término y prematuro<sup>32</sup>.**

NUTRIMENTO	INICIACIÓN	INCREMENTO	MÁXIMO
<b>GLUCOSA</b>			
Prematuro	5 g/ Kg/ día (4,5 mg a 5mg/ Kg /min)	2 g/ Kg/ día (1 mg/ Kg/ min)	22 g/ Kg/ día (15 mg/ Kg/ min)
RN a término	6 g/ Kg/ día (5 mg/ Kg/ min)	3 g/ Kg/ día (2 mg/ Kg/ min)	30 g/ Kg/ día (20 mg/ Kg/ min)
<b>LIPIDOS</b>			
Prematuro	0,25 g/ Kg/ día	0,5 g/ Kg/ día	2,3 a 3,5 g/ Kg/ día
RN a término	0,5 a 1 g/ Kg/ día	0,5 a 1 g/ Kg/ día	3,5 g/ Kg/ día
<b>PROTEINAS</b>			
Prematuro	0,25 g/ Kg/ día	0,5 g/ Kg/ día	2,3 a 3,5 g/ Kg/ día
RN a término	0,5 a 1 g/ Kg/ día	0,5 a 1 g/ Kg/ día	3,5 g/ Kg/ día

Los requerimientos basales en recién nacidos se calculan en forma precisa tomando como referencia la superficie corporal, con un volumen de 1 500 mL/ m<sup>2</sup>/ 24h. También se puede calcular por kilogramo de peso en 24 horas y varían entre 100-150 mL. El niño de peso muy bajo al nacer requiere de mayor cantidad de agua por su mayor radio de superficie corporal, su limitada capacidad para concentrar orina y sus mayores pérdidas insensibles a través de la piel y aparato respiratorio. En niños de muy bajo peso al nacer se recomienda iniciar el total de líquidos por vía parenteral de acuerdo a las cantidades siguientes en función de la edad postnatal y el peso<sup>32</sup>:

Peso(g)	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
<750	120-150 (ml)	120-200 (ml)	150-250 (ml)	150-250 (ml)
750 – 1000	70-120 (ml)	70-150 (ml)	100-180 (ml)	120-180 (ml)
>1000	60-80 (ml)	80-100 (ml)	100-120 (ml)	120-150 (ml)

Las incompatibilidades que se pueden presentar pueden ser químicas o físicas. Las incompatibilidades químicas envuelven todo tipo de suceso relacionado con la degradación de un componente de la mezcla, puede ser la pérdida de la integridad del componente o pérdida de su potencia. Incompatibilidad física se refiere al cambio en la apariencia, palatabilidad, uniformidad, producción de gas, disolución o suspensión de la emulsión<sup>29</sup>.

## **2.4. COMPLICACIONES DE LA NUTRICIÓN PARENTERAL**

La mayoría de las complicaciones se asocian con el uso de la hiperalimentación central e implica sobre todo infecciones y trastornos relacionados al catéter<sup>32, 18</sup>.

- A) Infección. Puede producirse la contaminación de la vía central como resultado de infección en el sitio de inserción, del uso de la vía para la extracción de muestras de sangre o la administración de sangre.
- B) Problemas asociados con el cateterismo. Las complicaciones implican Neumotórax, neumomediastino, hemorragia y quilotorax (causados por la lesión del conducto torácico), embolia pulmonar secundaria a trombosis. Los catéteres mal colocados pueden producir colección de líquido en la cavidad pleural.
- C) Complicaciones metabólicas:
  - Hiperglicemia
  - Hipoglicemia
  - Uremia
  - Hiperamonemia
  - Hiperlipidemia
  - Disfunción plaquetaria
  - Osteopenia
  - Hepatopatía colestásica.- Con la administración prolongada de dextrosa y proteínas por vía intravenosa, y la ausencia de alimentación enteral suele desarrollarse colestasis. La incidencia varía desde el 80 % en los RN de muy bajo peso al nacer que reciben NPT durante más de 30 días (sin alimentación enteral) hasta el 15 % o menos en los neonatos que pesan más de 1500 g y reciben NPT durante alrededor de 14 días. Juegan un rol importante en este tipo de complicaciones la infección bacteriana a nivel



gastrointestinal, el uso de mezclas de aminoácidos, la infusión continua de 24 horas y la administración de oligoelementos dañinos en disfunción hepática<sup>69</sup>.

## **2.5. FISIOLÓGÍA HEPÁTICA Y BILIAR**

### **2.5.1. Estructura hepática neonatal, funciones y flujo biliar**

El hígado es el órgano de mayores dimensiones en el cuerpo humano, constituyendo entre 2 y 5 % del peso total en el adulto y 5 % en el infante. El hígado está provisto de un suministro de sangre dual proveniente de la circulación intestinal (esplácica) y de sangre arterial<sup>17</sup>.

La unidad básica y funcional del hígado es el lóbulillo hepático, una estructura cilíndrica que se constituye alrededor de una vena central (o centro lobulillar) que desemboca en las venas hepáticas y luego en la vena cava. El propio lobulillo se compone, en esencia, de múltiples placas celulares hepáticas. Cada placa hepática suele componerse de dos células y entre las células adyacentes se encuentran pequeños canalículos biliares que drenan en los conductillos biliares, éstos discurren por los tabiques fibrosos que separan los lobulillos hepáticos. Los tabiques también llevan vénulas portales que reciben, sobre todo, la sangre venosa del tubo digestivo a través de la vena porta. Desde estas vénulas, la sangre se dirige hacia los sinusoides hepáticos planos, ramificados, ubicados entre las placas hepáticas, y después hacia la vena central. Los tabiques interlobulillares contienen asimismo arteriolas hepáticas, que suministran sangre arterial a los tejidos septales intercalados entre los lobulillos adyacentes; muchas de las pequeñas arteriolas también desembocan directamente en los sinusoides hepáticos. Aparte de las células hepáticas, los sinusoides venosos están tapizados por otros dos tipos de células: 1) Las células endoteliales típicas y 2) las grandes células de Kupffer, que son macrófagos residentes en los sinusoides y fagocitan las bacterias y otros cuerpos extraños<sup>17</sup>.

Debajo del revestimiento endotelial y entre las células endoteliales y hepáticas se encuentran espacios tisulares denominados espacios de Disse, también llamados perisinusoidales. Estos espacios se comunican con los vasos linfáticos dando como

resultado que exista un flujo de exceso de líquido por estos espacios hacia la vía linfática, así mismo las proteínas plasmáticas.

De acuerdo con su estructura organizacional, el hígado tiene diferentes e importantes funciones incluyendo: 1) filtración y almacenamiento de sangre; 2) metabolismo de macronutrientes, hormonas y químicos externos; 3) formación de bilis; 4) almacenamiento de vitaminas y hierro y 5) formación de factores de coagulación. El hígado sirve como el sitio principal de regulación del metabolismo, tomando y procesando los nutrientes ingeridos para su distribución controlada hacia los tejidos extra hepáticos<sup>17</sup>.

Una de las muchas funciones del hígado consiste en la secreción de la bilis en cantidades que oscilan entre 600 y 1000 mL / día, la bilis ejerce dos funciones importantes: En primer lugar, desempeña un papel importante en la digestión y absorción de las grasas, no porque contengan ninguna enzima que las digiera, sino porque los ácidos biliares cumplen dos misiones: a) ayudan a emulsionar las grandes cantidades de grasa de los alimentos, a las que convierten en múltiples partículas diminutas que son atacadas por lipasas secretadas en el jugo pancreático y b) favorecen la absorción de los productos finales de la digestión de las grasas a través de la mucosa intestinal. En segundo lugar, la bilis sirve como medio para la secreción de varios productos de desecho importantes procedentes de la sangre, entre los que se encuentran la bilirrubina, un producto final de la destrucción de la hemoglobina y el exceso de colesterol<sup>17</sup>.

### **2.5.2. Fisiología de la secreción biliar**

El hígado secreta la bilis en dos fases:

1) Los hepatocitos, principales células funcionales metabólicas, secretan la porción inicial; que contiene grandes cantidades de ácidos biliares, colesterol y otros componentes orgánicos. Esta bilis pasa a los diminutos canalículos biliares situados entre los hepatocitos. 2) A continuación, la bilis fluye por los canalículos hacia los tabiques interlobulillares, los canalículos desembocan en los conductos biliares terminales, éstos se unen en conductos progresivamente mayores hasta que acaban en el conducto hepático y colédoco. Desde este conducto, la bilis se vierte directamente al

duodeno y es derivada durante minutos a horas hacia la vesícula biliar a través del conducto cístico.

A lo largo de los conductos biliares se va añadiendo a la bilis inicial una segunda porción de secreción constituida por una solución acuosa de iones sodio y bicarbonato secretados por las células epiteliales secretoras que revisten los conductillos y conductos. Esta segunda secreción duplica a veces la cantidad total de bilis y esta estimulada especialmente por la secretina, promotora de la liberación adicional de iones bicarbonato, se añaden a los de las secreciones pancreáticas para neutralizar el ácido que llega al duodeno procedente del estómago<sup>17</sup>.

La mayor parte de la bilis se almacena en la vesícula biliar hasta que el duodeno la necesite. La capacidad máxima de la vesícula es de sólo 30 a 60 mililitros. No obstante, la cantidad de bilis que puede almacenarse en ella equivale a la producida durante 12 horas (alrededor de 450 mL), porque la mucosa vesicular absorbe continuamente agua, sodio, cloruro y casi todos los demás electrolitos pequeños e incrementa la concentración de otros componentes, como las sales biliares, el colesterol, la lecitina o la bilirrubina. Gran parte de esta absorción de la vesícula depende del transporte activo de sodio a través del epitelio vesicular, al que le sigue la absorción secundaria de iones cloruro, agua y casi todos los demás componentes que pueden difundir. De este modo, la bilis se concentra casi 5 veces, aunque en ocasiones alcance como máximo 20 veces<sup>17</sup>.

La secreción biliar es la función más importante del hepatocito. Es esencial para la excreción de sustancias endógenas y xenobióticos, eliminación de bilirrubina y colesterol así como la digestión y absorción de lípidos y vitaminas liposolubles en el lumen intestinal. Aproximadamente 0,5 gramos por día de sales biliares son formadas por los hepatocitos. Tres componentes contribuyen al flujo biliar: 1) ácidos biliares dependientes de formación de bilis, 2) ácidos biliares independientes de la secreción canalicular y 3) ácidos biliares independientes del flujo ductal<sup>72</sup>.

### **2.5.3. Composición de la bilis**

La bilis está constituida principalmente de sales biliares y sustancias orgánicas e inorgánicas en suspensión o disueltas manteniendo un equilibrio entre ambas<sup>17</sup>. En las muestras de bilis recolectadas desde conductos biliares humanos, las concentraciones de electrolitos inorgánicos de sodio (Na), Potasio (K), Calcio (Ca) y Bicarbonato ( $\text{HCO}_3$ ) son relativamente más altas que las concentraciones plasmáticas, mientras que las concentraciones de iones cloruros presentes en la bilis son relativamente menores que las encontradas en el plasma. Las concentraciones de los ácidos biliares fluctúan entre 2-45 mmol/ L. Las concentraciones de los pigmentos biliares fluctúan entre 50-200 mg/ 100 mL. Las proteínas y péptidos tales como glutatión, son también encontrados en la bilis<sup>19</sup>. Es también posible detectar glucosa y pequeñas cantidades de sustancias endógenas como la hormona tiroidea, esteroides, lípidos y sustancias. Debido a ello, la concentración de fosfolípidos fluctúa entre 25-180 mg/ 100 mL, mientras que las del colesterol varía entre 60 -320/ 100mL, con una relación promedio de fosfolípidos/ ácidos biliares de 0,3 y de colesterol/ ácidos biliares de 0,07. El ser humano difiere de los otros animales en que nuestra especie elimina el colesterol en una mayor proporción como colesterol más que convirtiéndolo en ácidos biliares<sup>20</sup>.

Las sustancias secretadas en mayores proporciones comprenden la bilirrubina, el colesterol, la lecitina y los electrolitos habituales del plasma. En otras palabras, durante el proceso de concentración vesicular se reabsorben agua, grandes cantidades de electrolitos (salvo los iones calcio) en la mucosa de la vesícula biliar. La totalidad del resto de los componentes, sobre todo las sales biliares y las sustancias lipídicas como colesterol y lecitina, no se reabsorben por lo que su concentración en la bilis es muy elevada<sup>17</sup>.

#### **2.5.4. Metabolismo de la Bilirrubina en infantes:**

La bilirrubina es el producto de la degradación del grupo hemo proveniente de los eritrocitos; así como también de la mioglobina muscular y de ciertas enzimas hepáticas como citocromo y catalasas.

El primer paso en la ruptura del grupo hemo es catalizado por la *hemoxigenasa*, una enzima que es encontrada en el sistema retículo endotelial así como en la mucosa

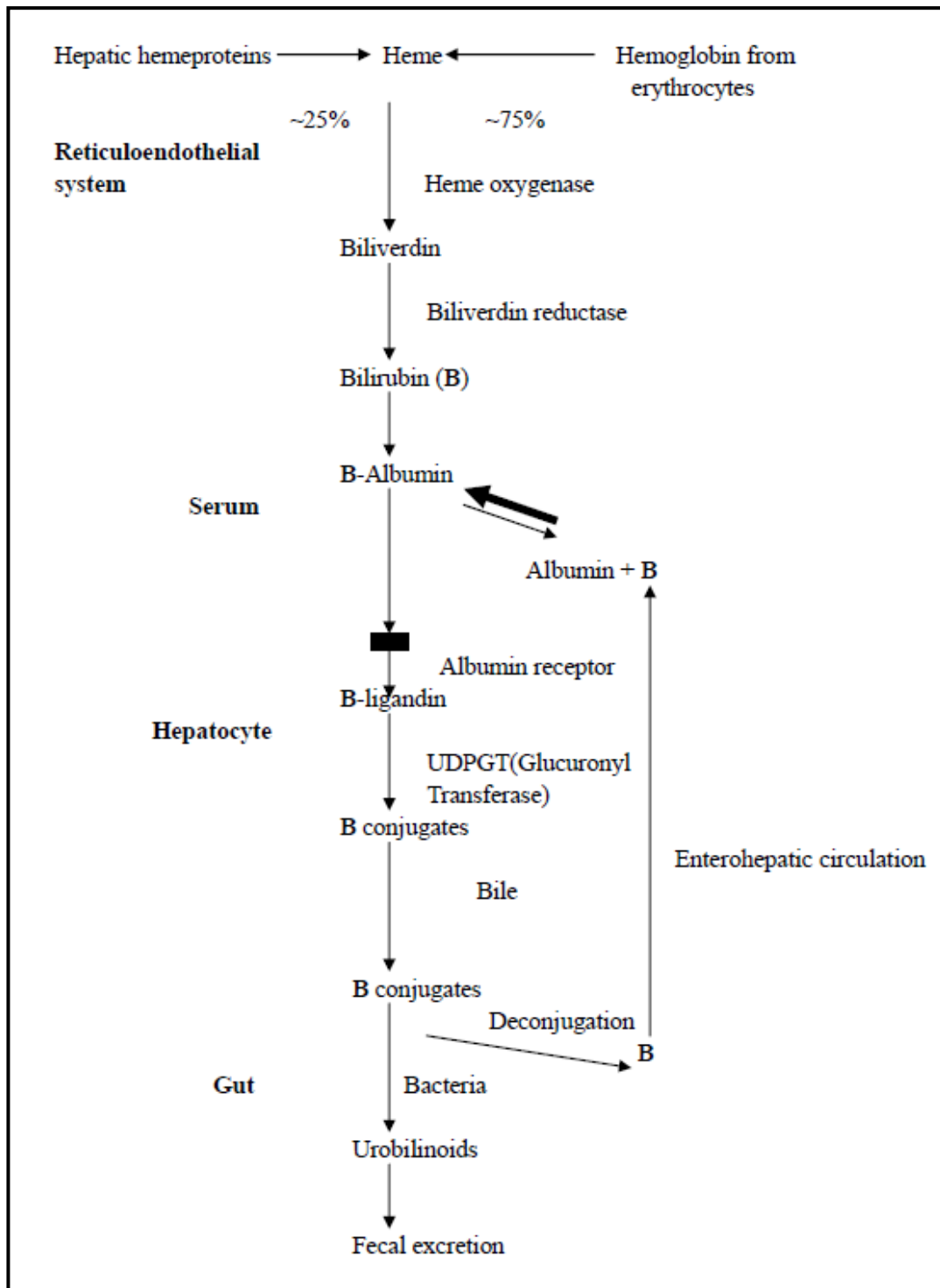
intestinal. El siguiente paso de reducción del carbono 10 central de la Biliverdina 9-alfa para formar bilirrubina es catalizado por la *biliverdina reductasa* en el citosol<sup>21</sup>. La bilirrubina no conjugada es transportada en el plasma unido a la albúmina. La unión de la bilirrubina a la albúmina incrementa con la edad postnatal, sin embargo es reducida en los recién nacidos enfermos y en presencia de ligandos competidores exógenos y/o endógenos<sup>22</sup>. Cuando el complejo bilirrubina- albúmina pasa a través de la circulación hepática, la bilirrubina mas no la albúmina es transportada hacia el hepatocito. Existe un receptor de albumina en la superficie del hepatocito y muchas proteínas transportadoras en la membrana plasmática de los hepatocitos sinusoidales que median el transporte de bilirrubina dentro del hepatocito<sup>23</sup>. El principal ligando tipo proteína que une a la bilirrubina es la *ligandina*, una glutatión S transferasa<sup>24</sup>. En monos, las concentraciones de ligandina en el hígado son bajas en el nacimiento pero parecen alcanzar los valores de adultos dentro de 1 o 2 semanas<sup>25</sup>. La bilirrubina unida es luego transferida al retículo endoplasmático liso, donde la conjugación toma lugar. La conjugación es catalizada por la enzima *uridindifosfoglucuronosil transferasa* (UDPGT), formando *bilirrubina monoglucurónido* y *diglucurónido*. El rol de este proceso es convertir la bilirrubina no conjugada insoluble en agua a una forma soluble en agua que pueda ser excretada a través de la bilis.

La actividad de la UDPGT en recién nacidos es solo 1 % de la actividad y valores de los adultos<sup>26</sup>. La excreción de la bilirrubina conjugada en la bilis es un proceso que requiere energía y que va en contra del gradiente de concentración. Cuando estos componentes conjugados están en la bilis, ellos son seguidamente transformados a urobilinoides a través de la acción bacteriana en el lumen intestinal. La bilirrubina conjugada puede además atravesar por la deconjugación a través de la acción de la *b-glucoronidasa*, y la bilirrubina no conjugada puede luego ser reabsorbida a través de la mucosa intestinal hacia la circulación enterohepática

Las rutas metabólicas alternas pueden existir pero no son actualmente conocidas en los infantes humanos<sup>72</sup>. Una ilustración esquemática del metabolismo de la bilirrubina está mostrada en la figura 3. En promedio, cada infante recién nacido desarrolla una bilirrubina sérica no conjugada mayor a 30  $\mu\text{mol/L}$  (1,8  $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) durante la primera semana de vida.

En general, los niveles pico de bilirrubina fluctúan durante el 3er y 5to día de vida y declina los días siguientes. En el infante la producción diaria de bilirrubina es estimada de  $8.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , que es más que el doble de los niveles de producción en el adulto<sup>72</sup>.

**Figura 3. Metabolismo de la bilirrubina**



La deficiencia de ligandina en el infante puede ocasionar el decrecimiento de la habilidad de retener bilirrubina dentro del hepatocito y consecuentemente puede causar un reflujo de bilirrubina en la circulación. Sin embargo, no existe evidencia que implique hiperbilirrubinemia patológica<sup>72</sup>. Las actividades de la UDPGT son lentas en el nacimiento y se incrementan en la vida temprana hasta alcanzar los valores normales de un adulto en la semana 24 de vida<sup>26</sup>.

## 2.6. EFECTOS DE LA NUTRICIÓN PARENTERAL EN EL RECIÉN NACIDO

Cada constituyente de la nutrición parenteral representa una potencial fuente de oxidantes. Existe una amplia variedad de nutrientes que pueden promover la peroxidación. Elementos como lípidos<sup>1,2</sup>, aminoácidos<sup>1, 3, 4</sup>, vitaminas<sup>5, 6</sup>, elementos trazas<sup>7</sup> y aditivos<sup>8</sup> usados para la estabilidad de la mezcla<sup>9</sup> pueden formar productos denominados peróxidos cuyas concentraciones varían entre 200 a 400  $\mu$ moles. A pesar que el peróxido de hidrógeno representa más del 80 % de los peróxidos generados en los multivitamínicos<sup>5</sup>, los peróxidos orgánicos también pueden contaminar las soluciones de nutrición parenteral<sup>36</sup>. Los peróxidos infundidos pueden causar estrés oxidativo *per se* o pueden ser convertidos a radicales libres en presencia de elementos trazas<sup>7</sup>. *In Vitro*, estas sustancias reactivas pueden alterar la integridad celular y dar como resultado efectos perjudiciales en diferentes órganos<sup>10, 38</sup>. En los neonatos, los indicadores del incremento de peroxidación están asociados con una morbilidad mayor<sup>39</sup> y en pacientes adultos están relacionados con síndrome de dificultad respiratoria y aumento en la excreción urinaria de peróxidos<sup>40</sup>.

La exposición de NPT a la luz está relacionado a alteraciones en la histología y función hepatobiliar en un modelo hepático perfundido<sup>41</sup> así como *in vivo*<sup>42</sup>. En presencia de la luz, la preparación multivitamínica parenteral es el sitio perfecto de reacciones entre el oxígeno y donadores de electrones, que resultan en la formación de peróxidos. Los efectos de estos productos han sido vinculados a esteatosis hepática<sup>11</sup>, fibrosis<sup>12</sup>, y colestasis<sup>45</sup>. Se ha encontrado relación entre los niveles de peróxidos y el estrés oxidativo sobre las alteraciones de órganos dianas. Debido al rol catalítico de la riboflavina excitada<sup>46</sup>, la fotoprotección de las soluciones de NPT resulta en un descenso en la generación de los peróxidos y una disminución en su ritmo de infusión<sup>5</sup>. Como el peróxido de hidrógeno es un oxidante débil se puede acumular en altas

concentraciones debido a su estabilidad y/o puede convertirse en otras especies reactivas en la presencia de metales de transición como hierro o cobre<sup>47, 48</sup>.

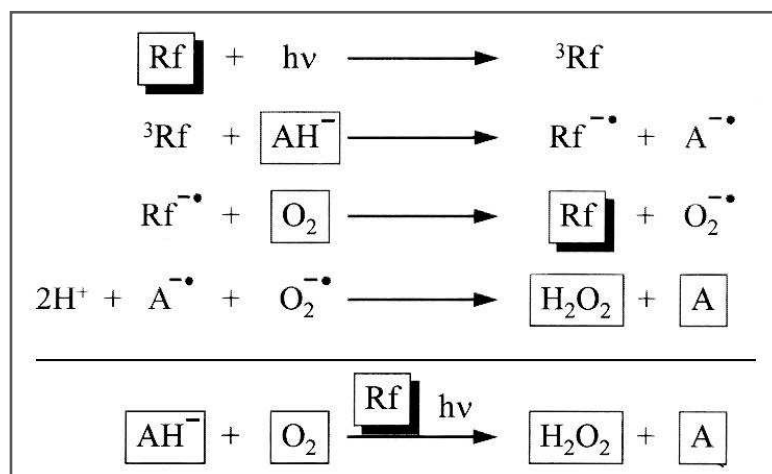
Grau y colaboradores<sup>49</sup> relacionaron el uso de la nutrición parenteral a largo plazo con la posible disfunción producida a nivel hepático. En este estudio, diversos pacientes de unidades de cuidados intensivos fueron incluidos y evaluados a lo largo de su terapia con nutrición parenteral. Los resultados, al igual que muchos otros estudios, mostraron que la disfunción hepática podría estar causada no únicamente por los efectos de la NP, sino también por el grado de disfunción multiorgánica, sepsis, uso temprano de nutrición enteral y malnutrición. Todos estos factores afectan la función del hígado del recién nacido de manera sinérgica<sup>49</sup>. Una de las posibles teorías en que se podría basar la alteración del flujo biliar y aparición de colestasis es el efecto de la NPT en las proteínas de transporte de la bilis desde el hepatocito hacia el canalículo biliar. Tazuke y colaboradores estudiaron las variaciones a nivel de los genes que codifican estas proteínas (MDR1, MRP2 y MDR2) en ratones de laboratorio y evidenciaron que las proteínas codificadas cuando se recibe NP presentan disfunción para transporte de fosfatidilcolina y rodamina hacia el canalículo biliar<sup>50</sup>.

### ***2.6.1. Posibles factores que afectan la funcionalidad hepática: PERÓXIDOS***

Los peróxidos como el peróxido de hidrogeno se generan por exposición de la NPT a la luz<sup>9, 2</sup>. No existe diferencia mayor en la concentración de peróxidos totales entre soluciones de NP y NPT (con lípidos) cuando ambas se encuentran con multivitamínicos; sin embargo, si existe diferencia cuando se expone cualquiera de estas soluciones (NP o NPT) a la luz o a foto protección<sup>5</sup>. Cabe resaltar que la concentración de peróxidos presentes en la fórmula neonatal obedece al tipo y cantidad de cada nutriente que se utiliza en la solución, más que a otros factores que podrían influenciar en su formación. Se ha observado presencia de peróxidos en NP de adultos pero en menor concentración<sup>65</sup>. El posible mecanismo de generación de peróxidos en soluciones de NP sugiere la excitación de la riboflavina y su posterior conversión a un triplete oxidado. En la presencia de donadores de electrones como ácido ascórbico, este triplete es reducido y los radicales productos de esta reacción convierten el oxígeno molecular a superóxido, regenerando la riboflavina. Estos productos (superóxido y el radical



ascorbato) pueden reaccionar para formar peróxido de hidrógeno y regenerar ácido ascórbico. En la reacción mencionada, la riboflavina es el catalizador de la reacción de reducción de oxígeno por ácido ascórbico<sup>66</sup>.



**Figura 4. Reacción de generación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en preparaciones multivitamínicas. En la presencia de luz ( $h\nu$ ), riboflavina (Rf) cataliza la reducción de  $\text{O}_2$  por el ácido ascórbico para producir  $\text{H}_2\text{O}_2$  y dehidroascorbato (A)<sup>66</sup>.**

Los lípidos intravenosos pueden provocar estrés oxidativo debido a su alto contenido de ácidos poliinsaturados (PUFAs)<sup>51, 52</sup>. Los peróxidos lipídicos (LPXs) son especies lábiles que pueden mediar reacciones enzimáticas o no y pueden producir compuestos de descomposición como malondialdehído (MDA), hidrocarburos volátiles, pentano y etano. En los humanos el estado de estrés oxidativo es contrarrestado por mecanismos antioxidantes dependiente de enzimas<sup>51</sup>. En pacientes dependientes de nutrición parenteral, el estrés oxidativo puede verse incrementado por la infusión de productos presentes en soluciones tipo estándar. En los prematuros que reciben infusión intravenosa de lípidos ricos en 6- PUFAs, se ha observado una elevación en la fracción de pentano expirada y su presencia en las soluciones lipídicas nutritivas de infusión<sup>53</sup>. Durante las condiciones normales de almacenamiento se ha encontrado cantidades significativas de MDA y LPXs en las emulsiones que contienen este tipo de ácidos grasos<sup>53</sup>. La peroxidación lipídica ocurre también durante el almacenamiento de las bolsas trisustrato de NPT. El grado de peroxidación de la mezcla de nutrientes está vinculado a la temperatura y a las condiciones de luz a la que está expuesta, materiales

que componen la bolsa plástica así como la concentración de PUFAs en la emulsión son factores que también están involucrados<sup>54</sup>.

Lavoie y colaboradores<sup>5</sup> realizaron un estudio basado en la premisa de que las soluciones multivitamínicas tienen la capacidad de generar peróxidos en las soluciones de nutrición parenteral total (NPT). Se realizaron las mediciones de hidroperóxidos en soluciones que contenían aminoácidos, lípidos y multivitamínicos (a nivel pediátrico) y que fueron o no expuestas a la luz solar. En este ensayo no se obtuvieron diferencias significativas entre los valores de hidroperóxidos contenidos en las soluciones sin multivitamínicos foto expuestas frente a las fotos protegidas. Sin embargo, cuando se compara los niveles de hidroperóxidos en soluciones que contienen multivitamínicos en solución, los niveles de hidroperóxidos entre las soluciones expuestas o no expuestas a la luz varían significativamente. Cabe resaltar que, en este estudio se midió la concentración de hidroperóxidos presentes en la solución de nutrición, así como en la línea de infusión por donde se administra la solución al infante. Se observó una diferencia significativa en los niveles de peróxidos entre la línea de infusión protegida y no protegida de la luz solar, indicando que un factor influyente en la formación de peróxidos que se infunden al paciente derivan de la exposición solar durante la administración<sup>5</sup>.

En un estudio posterior realizado por Chessex y colaboradores se utilizó como referencia el estudio antes mencionado de Lavoie para demostrar el efecto de la foto protección de las soluciones de nutrición parenteral sobre los peróxidos urinarios excretados por recién nacidos pre término. En este estudio se utilizaron los peróxidos urinarios como marcadores. El resultado, una diferencia significativa entre los niveles de peróxidos urinarios excretados en RN pre término que reciben nutrición parenteral total en comparación con los niveles basales de peróxidos urinarios<sup>47</sup>.

### *AMINOÁCIDOS*

Los aminoácidos son capaces igualmente de formar peróxidos cuando reaccionan con especies reactivas del oxígeno<sup>55</sup>.

### *VITAMINAS*

Mientras que la exposición a la luz genera en mayor cantidad lipoperóxidos (LPXs) que otros tipos de peróxidos dentro de las emulsiones lipídicas, en las soluciones multivitamínicas se genera mayor cantidad de peróxido de hidrógeno evidenciando que los multivitamínicos agregados a la NP son los mayores inductores de peróxidos en la nutrición parenteral<sup>5</sup>. La foto estimulación de la riboflavina cataliza una reacción entre el oxígeno y donadores de electrones como aminoácidos, lípidos y ácido ascórbico propiciando la formación de altas cantidades de peróxidos<sup>6</sup>. La exposición de multivitamínicos parenterales a la luz está asociado en animales con efectos nocivos de peróxidos en membranas celulares<sup>56</sup> y en órganos diana como pulmones<sup>57</sup> e hígado<sup>47</sup>. Así mismo, se ha encontrado un incremento en la excreción de peróxidos urinarios en infantes que reciben NPT<sup>58</sup>. Estos peróxidos contribuyen a la oxidación de muchos aminoácidos<sup>6</sup> y a la pérdida de vitaminas en la solución de infusión<sup>59</sup>. Proteger la NP de la luz reduce la generación de peróxidos<sup>5</sup> y mejora la estabilidad de las vitaminas infundidas en la solución y en el set de administración<sup>59</sup>. Por otra parte, la administración de multivitamínicos con lípidos foto protegidos mejora el manejo nutricional de nutrientes contenidos en la mezcla<sup>60</sup>.

### **2.6.2. Efectos de peróxidos en el organismo**

El suplemento de multivitamínicos parenterales induce respuestas oxidantes y antioxidantes en el hígado<sup>56</sup>. A pesar de que los multivitamínicos poseen propiedades anti radicales, comprobadas por los niveles de isoprostanos en el hígado<sup>47</sup>, la exposición de MVI induce respuestas de tipo oxidante en el tejido pulmonar<sup>57, 61</sup> y esteatosis hepática en animales de experimentación<sup>47</sup>.

En cuyes, se encontró que la exposición a la luz de las soluciones de NPT induce la transcripción de uno de los genes que codifican el pro colágeno en los pulmones, elemento vital para el desencadenamiento de la fibrosis<sup>61</sup>. El incremento de RNA pro-colágeno mitocondrial fue atribuido a la infusión de peróxidos y al descenso del contenido de glutatión evidenciado por modificaciones en marcadores de crecimiento pulmonar e índices histológicos de alveolarización y apoptosis. Sin embargo, nueva evidencia muestra que los causantes de los desórdenes causados a nivel de tejidos pulmonares podrían ser consecuencia de productos secundarios de exposición de las vitaminas a la luz antes que por efectos causados por peróxidos<sup>62</sup>.

Existe evidencia que vincula el estrés oxidativo con el desarrollo de varias enfermedades hepáticas. Por ejemplo; por su impacto en el glutatión, el estrés oxidativo juega un rol muy importante en el desarrollo de colestasis<sup>64</sup>. Al respecto, investigaciones recientes han demostrado que los multivitamínicos parenterales causan alteraciones del tipo enzimático en el hígado, mas no cambios en el flujo biliar que caracteriza a la colestasis<sup>13, 70</sup>, además los multivitamínicos generan esteatosis hepática en animales sin verse afectada la carga de peróxidos infundidos. En conclusión, la esteatosis podría estar vinculada a un producto de oxidación de la mezcla de nutrientes antes que a los peróxidos formados en la infusión<sup>47</sup>.

Se ha observado un incremento de la actividad de radicales libres en recién nacidos con varios desórdenes. La producción y actividad de radicales libres es incrementada por la administración de nutrición parenteral total y podría estar relacionada a daños de las macromoléculas biológicas. Una diana importante son los ácidos grasos poliinsaturados en donde los radicales libres del oxígeno reaccionan y pueden inducir peroxidación lipídica, perturbando el funcionamiento de la membrana y participando en la muerte celular. Hasanoglu y colaboradores<sup>52</sup> estudiaron los efectos de la NPT en el recién nacido a término y pre término. Se formaron 6 grupos de RN pre término y a término con 10 pacientes cada grupo. Grupo I, II y III con nutrición enteral, enteral más parenteral y parenteral exclusiva respectivamente. Se tomaron como marcadores de peroxidación lipídica: Malondialdehído (MDA), vitamina C, superóxido dismutasa (SOD), vitamina E en niveles basales, al primer día y al quinto día de infusión de la terapia nutricional. Dentro de los resultados se encontró que no hubo diferencia significativa entre los niveles de base y los niveles después de la administración nutricional en los tres grupos. En el grupo de RN a término no se obtuvo una diferencia significativa de MDA (aumento) en el 5<sup>to</sup> día con respecto a los niveles basales en RN alimentados con NPT exclusiva y NPT más NE. Los niveles de vitamina E aumentaron después del 1<sup>er</sup> y 5<sup>to</sup> día luego a la administración de NPT exclusiva. La Vitamina C decreció en los RN a término y prematuros alimentados con NPT y NE en los días 1<sup>ero</sup> y 5<sup>to</sup>. Los niveles de SOD aumentaron en los días de muestra 1<sup>ero</sup> y 5<sup>to</sup> en comparación con los análisis basales. A pesar de las contradicciones con otras publicaciones, la exposición a mayor cantidad de antioxidantes por el estado físico frágil, mayor cantidad

de Vit C, menor desgaste de Vit E y bloqueamiento del MDA por la Vitamina C son las posibles explicaciones a estas conclusiones que no evidencian estrés oxidativo<sup>52</sup>.

En otro estudio realizado por Romeo y Colaboradores<sup>14</sup> se partió desde la premisa que los peróxidos pueden causar daño a nivel de membranas en los tejidos hepáticos. Se realizó un estudio in vitro en hígados provenientes de ratas en estado neonatal y se les expuso a diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno. Dentro de las conclusiones de este estudio se observó que el peróxido de hidrógeno afecta el metabolismo oxidativo del hígado neonatal, probablemente por un mecanismo que inhibe la *ATP sintetasa* que podría estar relacionado a efectos deletéreos para el organismo como falta de ATP para la síntesis de proteínas del plasma y albúmina, reducción de la gluconeogénesis y homeostasis de la glucosa alterada, y por último necrosis de los hepatocitos o apoptosis que podrían llevar a falla hepática<sup>14</sup>.

Dentro de las posibles fuentes de peróxidos proveídos a pacientes que se encuentran en estado crítico se encuentra la nutrición parenteral. Lavoie y colaboradores<sup>57</sup> citaron a las soluciones multivitamínicas en la nutrición parenteral como principal inductor de reacciones de oxidación en las mezclas de nutrición parenteral, y por ende productores de peróxidos causantes de graves efectos en tejidos blancos como el tejido pulmonar. Se tomaron grupos de cuyes recién nacidos para la administración de diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno en comparación con una infusión multivitamínica y con una mezcla de nutrición parenteral. Se utilizaron como marcadores de estrés oxidativo los niveles de glutatión, enzimas relacionadas del glutatión, determinación de eicosanoides y de proteínas. Los resultados: Niveles de glutatión en pulmones que disminuyen al incrementar la concentración de peróxido de hidrógeno y de multivitamínicos pero que aumentan cuando se usa nutrición parenteral, indicando que las soluciones multivitamínicas llevan consigo peróxidos en infusión pero que estos son quelados al administrarse con otros componentes<sup>57</sup>.

Los efectos de la nutrición parenteral no han sido sólo estudiados en tejidos pulmonares de diferentes modelos animales, sino también en modelos humanos como lo determinó Hugues y colaboradores<sup>15</sup> al analizar los efectos de la nutrición parenteral en recién nacidos pre término con valores prolongados de bilirrubina elevada. En este estudio se

tomaron biopsias de hígado y análisis de marcadores hepáticos como TGO, TGP y GGT. Los resultados fueron concordantes con estudios anteriores que reportan el compromiso hepático luego de la nutrición parenteral prolongada evidenciado por la morfología de los hepatocitos y daño de organelas, así como niveles elevados de GGT durante la nutrición parenteral. Estos hallazgos se relacionan con la presencia de conjugados del ácido cólico en el suero, según Hugues, ésto nos hace presumir que existe buena evidencia de colestasis en un periodo inicial de suministro de la nutrición parenteral. Es importante resaltar que la colestasis podría estar asociada a múltiples factores como la deficiencia de un aminoácido específico esencial para la formación de las sales biliares, incremento en la litogenicidad de la bilis, interferencia con la formación de las micelas, el flujo de bilis dentro de los canalículos o la interferencia con las enzimas que controlan la secreción de bilis<sup>15</sup>.

Weingberger y colaboradores<sup>16</sup> relacionaron el perfil hepático (transaminasas hepáticas, bilirrubinas y fosfatasa alcalina) con marcadores de estrés oxidativo (ácido tiobarbitúrico urinario) durante la infusión de nutrición parenteral en recién nacidos pre término. En este estudio se observó que los niveles de estrés oxidativo (medido por TBARS urinario) se relaciona de manera directamente proporcional con los valores de transaminasas hepáticas, evidenciando que las especies reactivas de oxígeno que causan estrés oxidativo podrían generar un daño hepático leve evidenciado por marcadores hepáticos tipo transaminasas. La colestasis y el daño hepático observado en pacientes con nutrición parenteral a largo plazo podrían ser causados por un desbalance entre especies oxidantes y antioxidantes en el organismo del niño recién nacido sumado por el efecto hepatotóxico de las sales biliares y la inmadurez del flujo biliar en pacientes que no consumen alimento alguno por vía enteral<sup>16</sup>.

### **III. PARTE EXPERIMENTAL**

#### **Determinación de la población blanco**

Para determinar la población específica de estudio se realizó un metraje estadístico de las poblaciones de recién nacidos que reciben con mayor incidencia nutrición parenteral. En los resultados se observó que las poblaciones más afectadas fueron las de recién nacidos prematuros mayores de 27 y menores de 37 semanas, con peso al ingreso del estudio de 1000-1500  $\pm$ 200 g.

#### **Trabajo de campo**

De acuerdo a la literatura revisada, es probable que el efecto nocivo de las mezclas de nutrición parenteral esté relacionado con la carga de peróxidos que llevan consigo al momento de la infusión. Por ello, antes de desarrollar cualquier estudio clínico a nivel de marcadores hepáticos en recién nacidos se decidió determinar la presencia de peróxidos totales en estas mezclas que pudiesen afectar a esta población en el momento de la infusión. Adicionalmente, esta generación de especies reactivas del oxígeno se vería influenciada por la exposición de la mezcla a la luz o a la foto protección, por ello forma parte de los objetivos del trabajo de campo determinar la presencia de peróxidos su relación con la foto exposición o foto protección a la que se encuentra sometida la solución nutricional.

#### **3.1. Determinación de peróxidos en mezclas de nutrición parenteral.**

Muestras:

- Mezclas de Nutrición Parenteral Bisustrato fotoprotegidas
- Mezclas de Nutrición Parenteral Bisustrato fotoexpuestas

**Figura 5. Mezclas de Nutrición parenteral foto expuestas y foto protegidas.**



**Reactivos:**

*Nutrición parenteral (Composición)*

- Solución cristalina de aminoácidos 10 %
- Dextrosa 50 %
- Lípidos 20 %
- Cloruro de Sodio 20 %
- Cloruro de Potasio 20 %
- Gluconato de Calcio 7 % + levulinato de calcio 3 %
- Sulfato de Magnesio 20 %
- Fosfato de potasio 1 a 6 mEq /mL
- Sulfato de Zinc 0,88 %
- Oligoelementos
- Agua destilada 1L
- Multivitamínicos en solución al 0,01 %



*Mezcla del reactivo Naranja Xilenol para la determinación de hidroperóxidos en solución por el método de J. Nourooz – Zadeh y colaboradores.*

Requerimientos:

- Mezcla Naranja Xilenol:

Ácido Sulfúrico	25 $\mu$ M
Sulfato ferroso de amonio ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )	250 $\mu$ M
Sal disódica de Naranja Xilenol	100 $\mu$ M
Hidroxitolueno butilado	

Preparación:

- Preparar el reactivo A.-Pesar 35,8 mg de Naranja Xilenol y 49 mg de sulfato de amonio ferroso y disolver con Acido sulfúrico 250 mM hasta volumen de 50 ml.
- Reactivo B.- Preparar cada vez que se trabaja la cantidad suficiente de metanol con BTH.
- Finalmente mezclar 1 volúmenes de Reactivo A con 9 volúmenes de Reactivo B.

**Equipos:**

- Espectrofotómetro UV/VIS modelo 35 de Perkin Elmer
- Centrífuga marca ThermoScientific IEC FL40
- Selladora
- Estufa

**Materiales:**

- Guantes quirúrgicos 6<sup>1/2</sup>
- Jeringas de plástico de medidas 3, 5, 10 y 20 mL
- Agujas 26 G x ½ “
- Cooler (transporte)
- Tubos de ensayo 13 mL (lote idéntico)
- Gradilla
- Material de plástico foto protector continuo

- Tijeras
- Agua destilada

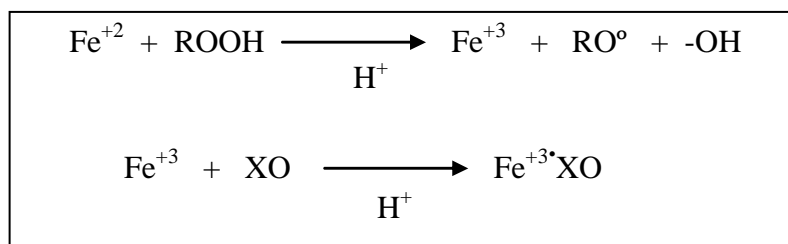
### **Recolección de las muestras:**

*Muestras provenientes de las soluciones de nutrición parenteral foto expuestas.-* Se recolectó 10 mL de la solución a las 0, 7, 12 y 24 horas de haber iniciado la infusión en el recién nacido. Para la toma de muestra se utilizaron jeringas de 10 mL y agujas 26 G ½” insertadas asépticamente en la solución para no interferir con la asepsia de dicha mezcla. Se mantuvieron las condiciones de foto exposición durante el transporte al laboratorio de análisis.

*Muestras provenientes de las soluciones de nutrición parenteral foto protegidas-* Se recolectó 10 mL de la solución a las 0, 7, 12 y 24 horas de haber iniciado la infusión en el recién nacido. Para la toma de muestra se utilizaron jeringas de 10 mL y agujas 26 G ½” insertadas asépticamente en la solución para no interferir con la asepsia de dicha mezcla. Se mantuvieron las condiciones de foto protección durante el transporte al laboratorio de análisis.

### **Fundamento del Método**

Esta técnica de medición de hidropéroxidos por la reacción del Naranja Xilenol se fundamenta en la oxidación de iones ferrosos a férricos por los hidropéroxidos en condiciones ácidas, los iones férricos formados se unen al indicador xilenol naranja para formar un complejo coloreado estable que es leído por espectrofotometría a 560 nm.



### **3.2 Análisis de marcadores hepáticos en recién nacidos prematuros**

*Determinación de Bilirrubina Directa, Bilirrubina Indirecta, transaminasas hepáticas (TGO y TGP), Gammaglutamil transferasa (GGT)*

#### **Población:**

Criterios de inclusión:

- Recién nacidos pre término con peso de  $1000-1500 \pm 200$  gramos,
- Edad gestacional mayor de 27 semanas y menor de 37 semanas
- Indicación médica de inicio de Nutrición parenteral
- Recien nacidos que reciben NP por mínimo  $7 \pm 2$  días.

Criterios de exclusión:

- Compromiso mayor gastrointestinal
- Malformaciones congénitas mayores
- Recién nacidos post operados
- Pacientes con antecedentes de terapia transfusional (concentrado de plaquetas, paquete globular y/o plasma fresco congelado)
- Sepsis.
- Pacientes que previamente recibieron NP.

#### **Muestras**

- Grupo *con NP<sub>1</sub>*. Se tomaron muestras sanguíneas (1ml) a 30 recién nacidos con indicación de inicio de NP, corresponden a los niveles basales.
- Grupo *con NP<sub>2</sub>*. Se tomaron muestras sanguíneas (1ml) a los  $7 \pm 2$  días de haber iniciado la NP en el mismo grupo de recién nacidos basal.
- Grupo *sin NP<sub>1</sub>*. Se tomaron muestras sanguíneas (1ml) al primer día de suspensión de NP ( $0 \pm 2$  días).
- Grupo *sin NP<sub>2</sub>*.- Se tomaron muestras sanguíneas (1ml) a los  $7 \pm 2$  días de suspensión de la administración de NP.

### **Equipos, reactivos y materiales de laboratorios:**

#### **Reactivos:**

- COBAS-Kit para la determinación cuantitativa *in vitro* de Bilirrubina directa en suero o plasma humano utilizando analizadores automáticos de química clínica. Producido por **ROCHE Inc.**
- COBAS-Kit para la determinación cuantitativa *in vitro* de Bilirrubina total en suero o plasma humano utilizando analizadores automáticos de química clínica. Producido por **ROCHE Inc**
- Test para la determinación de Aspartato aminotransferasa sin fosfato de piridoxal. Producido por **ROCHE Inc.**
- Test para la determinación de Alanina aminotransferasa sin fosfato de piridoxal. Producido por **Roche Diagnostics.**
- Test *in vitro* para la determinación cuantitativa de la GGT en suero y plasma humanos con analizadores automáticos Roche de química clínica. Producido por **Roche diagnostics.**

#### **Materiales**

- Ropa estéril
- Pinzas y Tijeras estériles
- Tubos Vacutainer (con anticoagulante)
- Mascarilla 3M
- Guantes 6 ½ y 7
- Jeringas de plástico 1ml y 3 mL
- Aguja 26 Gx ½ “
- Gasas

#### **Equipos:**

- Espectrofotómetro UV/VIS Modelo Hitachi 911 (Laboratorios Roche)

### **Recolección de la muestra:**

#### Grupo con NP<sub>1</sub>:

En el Servicio de Neonatología del HNERM se tomaron muestras sanguíneas a 30 niños que cumplieron con los criterios de inclusión del estudio y ninguno de los criterios de exclusión en el día 0±2 días de haber iniciado la NP. Estas muestras fueron tomadas en su mayoría de las venas de mayor accesibilidad de la extremidad superior (dorso de mano) del recién nacido y en casos minoritarios del catéter venoso que poseen para la administración de NP durante el día previo o mismo día en que se iniciaba la NP. Los análisis de laboratorio fueron procesados por el departamento de Laboratorio Clínico del HNERM.

#### Grupo con NP<sub>2</sub>:

En el día 7±2 de haber iniciado la NP, se toman muestras sanguíneas para la determinación de las pruebas hepáticas a los mismos recién nacidos del grupo con NP<sub>1</sub>.

#### Grupo sin NP<sub>1</sub>:

En el día 0±2 de suspensión de la NP, se toman muestras sanguíneas para la determinación de las pruebas hepáticas a los mismos recién nacidos del grupo con NP<sub>2</sub>.

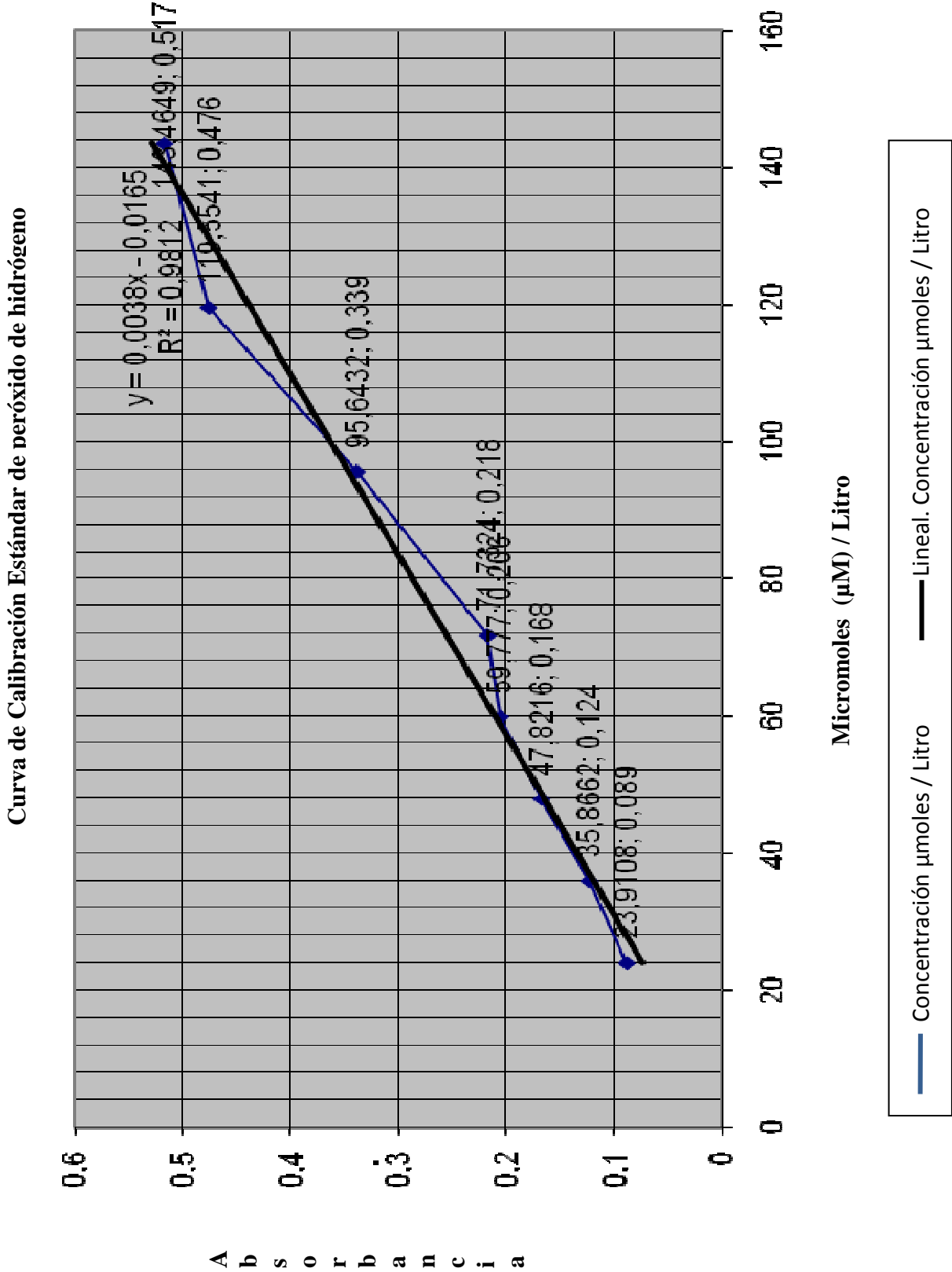
#### Grupo sin NP<sub>2</sub>:

En el día 7±2 de haber suspendido la NP, se tomaron las pruebas sanguíneas para la determinación de las pruebas hepáticas a los mismos recién nacidos del grupo sin NP<sub>1</sub>.

### **Preparación de las soluciones de trabajo y curvas de calibración:**

Se tomaron las siguientes cantidades y/o concentraciones de Peróxido de hidrógeno para realizar la siguiente curva de calibración:

- Se tomó 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50 y 60 µlitros de Peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) para llevarlo a 1 Litro de agua destilada y así obtener la concentración 23,91; 35,86; 47,82; 59,77; 71,73; 95,64; 119,55 y 143,46 µmoles/litro respectivamente:



### **Procedimientos para la determinación de peróxidos en nutrición parenteral:**

Luego de haber procedido con el muestreo en el tiempo establecido, las muestras fueron llevadas al laboratorio para su respectiva determinación.

Se utilizaron alícuotas de cada solución obtenida y se procedió a la reacción con el reactivo de naranja xilenol pre mezclado.

Se esperó 30 minutos para luego centrifugar y eliminar los residuos de degradación de proteínas por el ácido sulfúrico. Se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y se procedió a la lectura a 560 nm en el espectrofotómetro UV/VIS contra el blanco de agua destilada.

### **Procedimiento para la determinación de marcadores hepáticos TGO, TGP, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta y gamma glutamil transferasa:**

Luego de obtener la muestra sanguínea, ésta fue enviada a las instalaciones de Laboratorio clínico del Hospital Rebagliati para su determinación. En todas estas determinaciones se utilizó el plasma sanguíneo.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se procesó mediante el paquete SPSS Versión 17.0. Se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas para el procesamiento de los resultados:

- Análisis de varianza (ANOVA)
- T student de muestras relacionadas
- Coeficiente de correlación de Pearson (muestras relacionadas)
- Comparaciones de medias por el método de Tukey

Los resultados se expresaron en primera instancia en sus valores medios y desviaciones estándar. El grado de asociación de variables cuantitativas se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

La comparación de medias se realizó según la prueba t Student y la comparación múltiple mediante el método de Tukey de medias globales.

Se consideró significativo todo resultado con un valor de  $p < 0,05$

### **Consideraciones éticas**

El esquema de trabajo para el muestreo en pacientes recién nacidos estuvo utilización del excedente de plasma utilizado para otras pruebas de control o de rutina requeridas por el servicio de Neonatología. Por ningún motivo se obtuvo muestra sanguínea sólo por fines del presente estudio.

Este proyecto de Investigación fue revisado y aprobado por la Oficina de Capacitación, Investigación y Docencia y por el Comité de ética del Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins.



## VI.- RESULTADOS

### Procesamiento de valores de peróxidos en mezclas de nutrición parenteral

**Tabla 1. Estadísticos descriptivos para concentraciones de peróxidos en mezclas de nutrición parenteral en función del tiempo**

	Foto	Media	Desv. std	N
Peróxidos 00	Expuesta	299.87	166.00	31
	Protegida	278.01	139.92	31
	Total	288.94	152.65	62
Peróxidos 05	Expuesta	155.11	140.81	31
	Protegida	142.28	117.93	31
	Total	148.69	128.97	62
Peróxidos 18	Expuesta	212.92	133.72	31
	Protegida	183.39	115.40	31
	Total	198.15	124.76	62
Peróxidos 24	Expuesta	284.55	162.78	31
	Protegida	258.58	187.81	31
	Total	271.57	174.79	62

En la tabla 1 se describe la concentración de peróxidos (medias) en función del tiempo de foto exposición o foto protección (0, 5, 18, 24 horas) y sus desviaciones estándar. El número de muestras analizado para cada grupo (expuesto o foto protegido) fueron de 31.

**Tabla 2. Análisis de varianza para peróxidos en cada mezcla de nutrición parenteral en función del tiempo y foto exposición o foto protección**

Medida: peroxido

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
tiempo	792816	3	264272	51.294	.000
tiempo * foto	2408.259	3	802.753	.156	.926
Error	927371	180	5152.061		

En la tabla 2 se aprecian los valores de peróxido y la significancia 0,000 ( $p<0,05$ ) a lo largo de los 4 periodos de observación (0, 5, 18, 24 horas), indicando que si existe una diferencia estadísticamente significativa de las concentraciones de peróxidos a través del tiempo. Adicionalmente, el valor 0,926 ( $p<0,05$ ; no existe diferencia significativa) entre los valores de peróxidos en función de la dupla foto exposición y tiempo, nos indica que no existe diferencia significativa.

**Tabla 3. Análisis de varianza para peróxidos en función de grupo de mezclas de NP foto expuestas o foto protegidas**

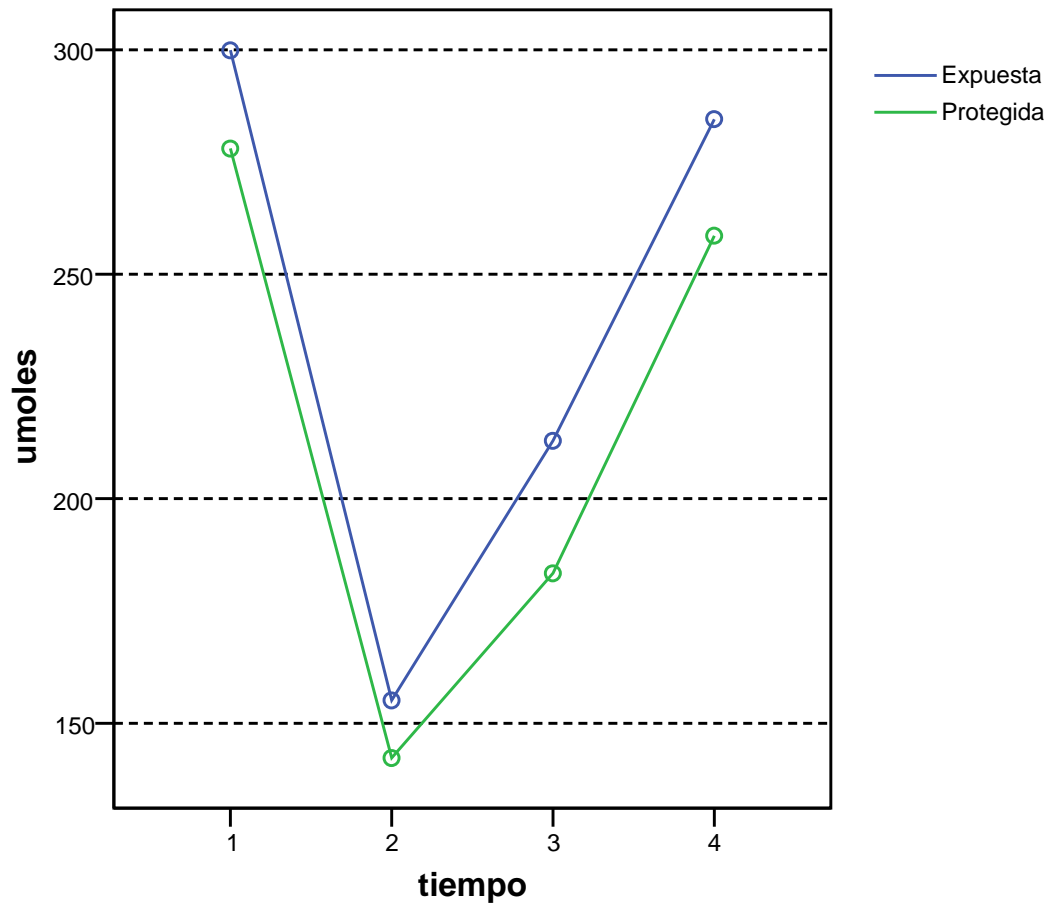
Medida: peroxido

Variable transformada: Promedio

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
foto	31525	1	31525	.441	.509
Error	4287774	60	71463		

En la tabla 3 se aprecia el análisis de varianza de la variable dependiente *peróxidos* versus la variable independiente *foto (exposición o protección)*. Se evidencia que no existe diferencia significativa (significancia de 0,509;  $p<0,05$ ) entre las medias de los peróxidos en condiciones de foto exposición versus peróxidos en condiciones de foto protección.

**Gráfica 1. Valores medios de peróxidos ( $\mu$ moles) vs tiempo**



El gráfico1 muestra las *concentraciones de peróxidos* en  $\mu$ moles versus *tiempo* (toma de muestra: 0, 5, 18 y 24 horas) en mezclas foto expuestas y foto protegidas. Se muestran los valores para ambos grupos muy cercanos uno del otro, reforzando los resultados de análisis de varianza previos. La línea azul muestra la tendencia del grupo de NP foto expuesta y la línea verde muestra la tendencia del grupo de NP foto protegida.

**Tabla 4. Estadísticos de muestras relacionadas (peróxidos) a 0, 5, 18 y 24 h para NP foto expuesta y foto protegida**

	Media	N	Desviación std	Error std
Expuesta 00	299.87	31	166.00	29.81
Protegida 00	278.01	31	139.92	25.13
Expuesta 05	155.11	31	140.81	25.29
Protegida 05	142.28	31	117.93	21.18
Expuesta 18	212.92	31	133.72	24.02
Protegida 18	183.39	31	115.40	20.73
Expuesta 24	284.55	31	162.78	29.24
Protegida 24	258.58	31	187.81	33.73

En la tabla 4 se observan las medias de los valores de peróxidos encontrados a las 0, 5, 18 y 24 horas de nutrición parenteral foto expuesta y foto protegida así como las desviaciones estándar para cada valor.

**Tabla 5. Correlaciones de muestras relacionadas (peróxidos) para periodo de foto exposición y foto protección en función del tiempo (0, 5, 18, 24 horas)**

	N	Correlación	Sig.
Expuesta 00 y Protegida 00	31	.881	.000
Expuesta 05 y Protegida 05	31	.862	.000
Expuesta 18 y Protegida 18	31	.864	.000
Expuesta 24 y Protegida 24	31	.926	.000

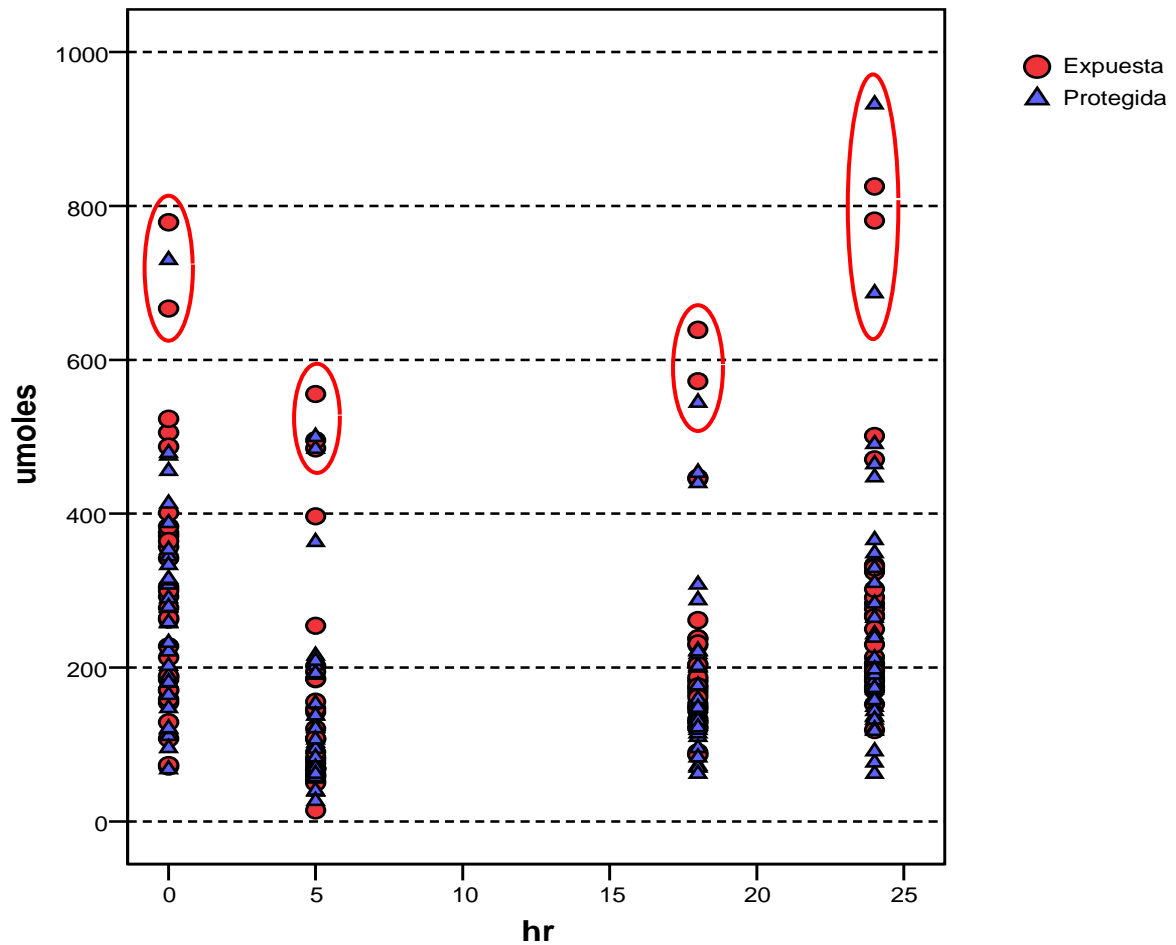
En la tabla 5 se observa las correlaciones entre las nutriciones parenterales foto expuestas y foto protegidas en cada toma de muestra (0, 5, 18 y 24 horas). Los resultados de significancia demuestran que todos los datos provenientes del grupo foto expuesto y foto protegido están estrechamente correlacionadas ( $p=0,000$ ;  $p<0,001$ ).

**Tabla 6. Tabla de comparaciones de medias en diferentes tiempos para soluciones de NP foto expuestas y foto protegidas.**

	Diferencias					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desvia ción std	Error std	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Expuesta 00 - Protegida 00	21.86	78.85	14.16	-7.06	50.78	1.544	30	.133
Expuesta 05 - Protegida 05	12.83	71.52	12.85	-13.40	39.07	.999	30	.326
Expuesta 18 - Protegida 18	29.53	67.31	12.09	4.84	54.22	2.443	30	.021
Expuesta 24 - Protegida 24	25.97	71.59	12.86	-.29	52.23	2.020	30	.052

En la tabla 6 se observa las comparaciones de las medias entre grupos de NP foto expuestas versus NP foto protegidas en diferentes tiempos (0, 5, 18 y 24 horas). Al contrastar las medias de los grupos foto expuesta y foto protegida por periodo, la única diferencia significativa aparece a las 18 horas ( $p= 0,021$ ) con un intervalo de confianza al 95 % ( $p < 0,05$ ) donde la media se encuentra entre los valores de 4,84 y 54,22 evidenciando la existencia de diferencia significativa en los valores de peróxidos entre los grupos de NP foto expuesta y foto protegida a las 18 horas.

**Gráfico 2. Concentración de peróxidos ( $\mu$ moles) versus tiempo (horas).**



El gráfico 2 nos muestra los valores inferiores y superiores para cada tiempo y la región en donde las medias concurren con mayor frecuencia. Los valores de los peróxidos encontrados en mezclas foto expuestas y foto protegidas no varían en gran magnitud, sólo se encuentran algunos valores distantes de las medias representados por los valores más alejados de la dispersión.

**Tabla 7. Estadísticos descriptivos para concentraciones de peróxidos en función del tiempo y de foto protección o foto exposición.**

Variable dependiente: Peróxidos

Foto	hr	Media	Desv. std	N
Expuesta	0	299.87	166.00	31
	5	155.11	140.81	31
	18	212.92	133.72	31
	24	284.55	162.78	31
Protegida	0	278.01	139.92	31
	5	142.28	117.93	31
	18	183.39	115.40	31
	24	258.58	187.81	31
Total	0	288.94	152.65	62
	5	148.69	128.97	62
	18	198.15	124.76	62
	24	271.57	174.79	62

La tabla 7 muestra las medias de los valores de peróxidos en mezclas foto expuestas y foto protegidas

**Tabla 8. Análisis de varianza para peróxidos frente a foto exposición o foto protección y tiempo por grupos**

Variable dependiente: Peróxidos

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Significación
fot	31525	1	31525	1.451	.230
hr	792816	3	264272	12.162	.000
fot * hr	2408.259	3	802.753	.037	.990
Error	5215145	240	21730		
Total corregida	6041895	247			

La tabla 8 muestra el análisis de varianza por grupos de foto exposición o foto protección. No hay diferencia estadísticamente significativa entre los valores medios de peróxidos de soluciones foto expuestas y foto protegidas ( $p=0,230$ ) tampoco existe

diferencia significativa ( $p=0,990$ ) cuando se analiza la relación foto (foto exposición o foto protección) y tiempo. Por el contrario si existe diferencia significativa ( $p=0,000$ ) de los valores de peróxidos a través del tiempo.

**Tabla 9. Valores estadísticos descriptivos e intervalos para las medias de los peróxidos a través del tiempo (0, 5, 18 y 24 horas)**

Variable dependiente: Peróxidos

Foto	hr	Media	Error std	Intervalo de confianza al 95%.	
				Límite inferior	Límite superior
Expuesta	0	299.87	26.48	247.72	352.03
	5	155.11	26.48	102.95	207.26
	18	212.92	26.48	160.77	265.08
	24	284.55	26.48	232.40	336.71
Protegida	0	278.01	26.48	225.86	330.16
	5	142.28	26.48	90.12	194.43
	18	183.39	26.48	131.23	235.54
	24	258.58	26.48	206.43	310.74

En la tabla 9 se observa las medias de los peróxidos en soluciones foto expuestas y foto protegidas en diferentes tiempos (0, 5, 18 y 24 horas) y los límites superiores e inferiores en que se desplaza la media con un intervalo de confianza al 95 %.



**Tabla 10. Comparaciones múltiples de medias globales de valores de peróxidos en nutrición parenteral por el método de Tukey**

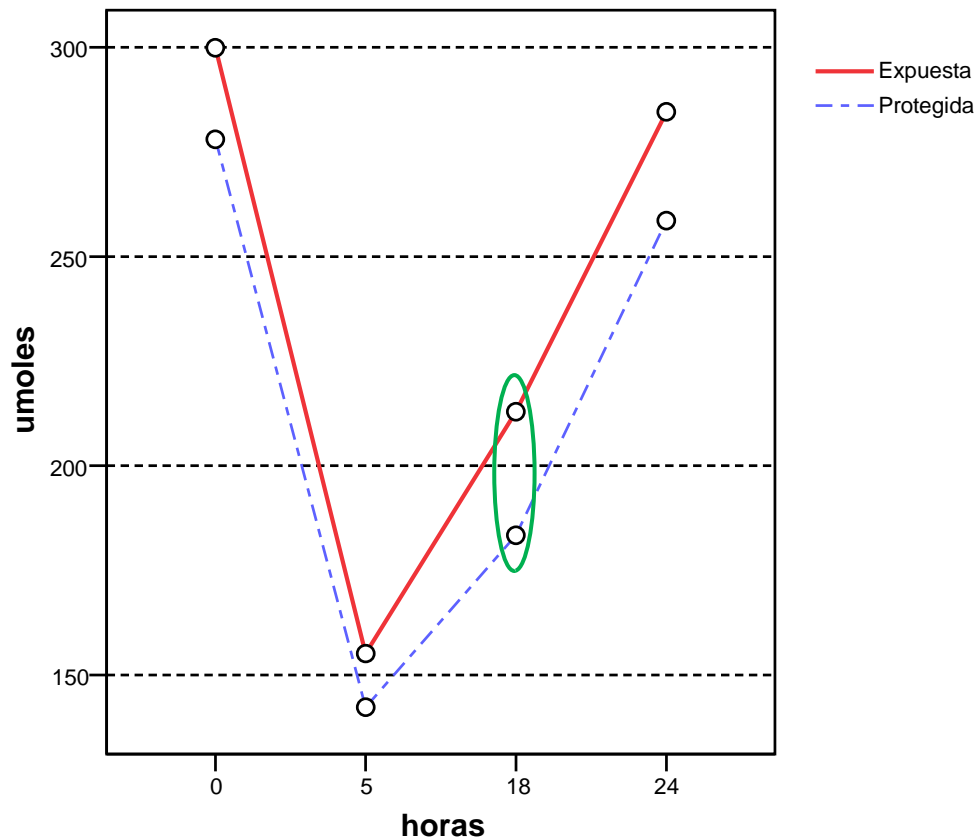
Variable dependiente: Peróxidos

(I) hr	(J) hr	Diferencia entre medias (I-J)	Error std	Significación	Intervalo de confianza al 95%.	
					Límite inferior	Límite superior
DHS de Tukey 0	5	140.25	26.48	.000	71.76	208.75
	18	90.79	26.48	.004	22.29	159.28
	24	17.37	26.48	.913	-51.12	85.87
5	18	-49.46	26.48	.245	-117.96	19.03
	24	-122.88	26.48	.000	-191.37	-54.38
18	24	-73.41	26.48	.030	-141.91	-4.92

Esta es una comparación de medias globales, expuestas y protegidas juntas.

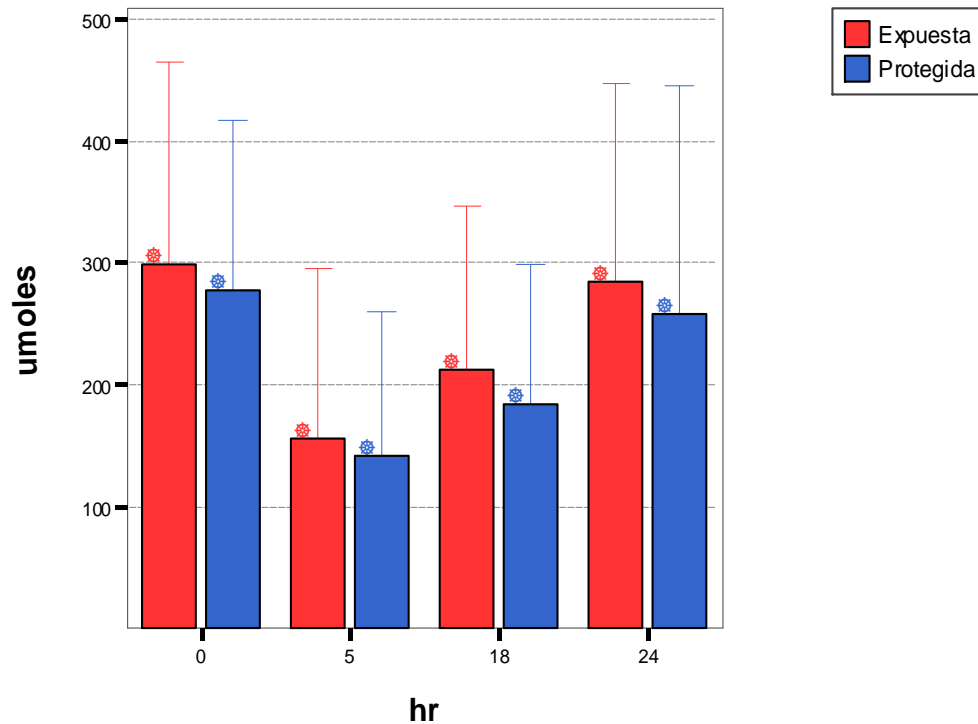
En la tabla 10 se observan las comparaciones entre las diferencias de las medias para los valores de peróxidos en los diferentes tiempos (0, 5, 18 y 24 horas). Existe un  $p < 0,05$  para 0-5, 0-18, 5-24 y 18-24 horas indicando que existe una diferencia estadísticamente significativa en los valores de peróxidos totales en estos intervalos de tiempo con un intervalo de confianza al 95 %. En las relaciones 0-24 horas y 5-18 horas no existe una diferencia estadísticamente significativa en las diferencias de las medias de peróxidos. Estas comparaciones no distinguen entre grupo foto expuesta o foto protegida debido a que representan medias totales.

**Grafico 3. Concentración de *peróxidos* (μmoles) versus *tiempo* (horas).**



En el gráfico 3 se evidencia la diferencia significativa entre los valores de peróxidos en mezclas de soluciones parenterales en condiciones de *foto exposición* versus *foto protección* en 18 horas.

**Gráfico 4. Concentración de peróxidos ( $\mu$ moles) vs tiempo (0, 5, 18 y 24 horas) en mezclas de soluciones parenterales distinguido por grupos foto expuestos o foto protegidos.**



El gráfico 4 muestra la relación de *concentración de peróxidos* versus *tiempo*. Los valores de peróxidos son menores a las 5 horas y mayores en el tiempo 0 horas. El nivel de peróxidos de las 24 horas es similar a los niveles de 0 horas. Las concentraciones de peróxidos no refleja grandes variaciones entre los grupos de soluciones foto expuestas y foto protegidas a través de los cuatro tiempos.

### **Procesamiento de Valores de marcadores hepáticos TGO, TGP, BT, BD y GGT**

**Tabla 11. Estadísticos descriptivos para marcadores hepáticos en periodo con nutrición parenteral (*con NP*)**

	Media	N	Desviación std	Error std de la media
TGO <i>con NP 1</i>	33,00	30	14,26	2,60
TGO <i>con NP 2</i>	24,27	30	10,05	1,84
TGP <i>con NP 1</i>	8,80	30	5,82	1,06
TGP <i>con NP 2</i>	5,93	30	3,85	,703
BT <i>con NP 1</i>	9,33	30	2,98	,544
BT <i>con NP 2</i>	8,73	30	3,80	,694
BD <i>con NP 1</i>	,790	30	,395	,072
BD <i>con NP 2</i>	,900	30	,460	,084
GGT <i>con NP 1</i>	89,86	30	46,88	8,56
GGT <i>con NP 2</i>	130,97	30	102,78	18,76

La tabla 11 muestra los valores estadísticos descriptivos de los marcadores hepáticos TGO, TGP, BT, BD, GGT **durante el periodo de administración** de nutrición parenteral (niveles basales: *con NP<sub>1</sub>*, niveles a los  $7\pm 2$  días: *con NP<sub>2</sub>*).

**Tabla 12. Correlaciones de marcadores hepáticos en periodo con NP (n=30)**

	N	Correlación	Sig.
TGO con NP 1 y TGO con NP 2	30	0,1013	,594
TGP con NP 1 y TGP con NP 2	30	0,0102	,958
BT con NP 1 y BT con NP 2	30	0,4132	,023
BD con NP 1 y BD con NP 2	30	0,1749	,355
GGT con NP1 y GGT con NP 2	30	0,2111	,263

La tabla 12 muestra las correlaciones para los diferentes marcadores hepáticos. El marcador hepático “BT” es el que muestra correlación significativa entre la primera y segunda toma de muestra de 0,023 ( $p<0,05$ ).

**Tabla 13. Comparaciones de diferencias de medias de marcadores hepáticos en periodo con NP.**

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
				95 % Intervalo de confianza para la diferencia				
	Media	Desviación std	Error std. de la media	Inferior	Superior			
TGO con NP 1 - TGO con NP 2	8,73	16,59	3,03	2,54	14,93	2,883	29	,007
TGP con NP 1 - TGP con NP 2	2,87	6,95	1,27	0,27	5,46	2,260	29	,031
BT con NP 1 - BT con NP 2	,605	3,737	,682	-,790	2,000	,887	29	,382
BD con NP 1 - BD con NP 2	-,110	,551	,101	-,316	,096	-1,093	29	,284
GGT con NP 1 - GGT con NP 2	-41,11	103,57	18,91	-79,78	-2,44	-2,174	29	,038

La tabla 13 muestra la significancia estadística de las diferencias de las medias de cada marcador hepático en el periodo de administración de NP (*con NP*). Se observa diferencias estadísticamente significativas en TGO ( $p=0,07$ ), TGP ( $p=0,031$ ) y GGT ( $p=0,038$ ) entre los niveles basales (*con NP<sub>1</sub>*) y niveles a los  $7\pm 2$  días (*con NP<sub>2</sub>*) con un intervalo de confianza al 95 %.

**Tabla 14. Estadísticos descriptivos para marcadores hepáticos en periodo sin nutrición parenteral (*sin NP*)**

	Media	N	Desviación std.	Error std. de la media
TGO <i>sin NP 1</i>	25,60	30	8,15	1,49
TGO <i>sin NP 2</i>	31,87	30	21,39	3,91
TGP <i>sin NP 1</i>	8,37	30	6,85	1,25
TGP <i>sin NP 2</i>	12,70	30	9,29	1,70
BT <i>sin NP 1</i>	7,27	30	4,26	,778
BT <i>sin NP 2</i>	5,45	30	3,35	,612
BD <i>sin NP 1</i>	1,11	30	,701	,128
BD <i>sin NP 2</i>	1,59	30	2,06	,375
GGT <i>sin NP 1</i>	117,37	30	60,08	10,97
GGT <i>sin NP 2</i>	139,40	30	88,38	16,14

En la tabla 14 se observan los datos de estadística descriptiva de los marcadores hepáticos en el **periodo sin nutrición parenteral** (niveles basales: *sin NP<sub>1</sub>*, niveles a los  $7\pm 2$  días: *sin NP<sub>2</sub>*).

**Tabla 15. Correlaciones de marcadores hepáticos en periodo sin nutrición parenteral.**

	N	Correlación	Sig.
TGO <i>sin NP 1</i> y TGO <i>sin NP 2</i>	30	0,1144	,547
TGP <i>sin NP 1</i> y TGP <i>sin NP 2</i>	30	0,3598	,051
BT <i>sin NP 1</i> y BT <i>sin NP 2</i>	30	0,8188	,000
BD <i>sin NP 1</i> y BD <i>sin NP 2</i>	30	0,4393	,015
GGT <i>sin NP 1</i> y GGT <i>sin NP 2</i>	30	0,5544	,001

La tabla 15 muestra las correlaciones de los marcadores hepáticos durante el periodo sin nutrición parenteral entre el *sin NP<sub>1</sub>* (basales) y *sin NP<sub>2</sub>* (7±2 días). Se muestra que sólo son estadísticamente significativas las correlaciones de BT (P=0,000), BD (p=0,15), GGT (p=0,001), mientras que los valores de TGO (p=0,547) y TGP (p=0,501) durante el periodo sin NP no muestran correlación significativa.

**Tabla 16. Comparaciones de diferencias de medias de marcadores hepáticos en periodo sin nutrición parenteral**

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
				95 % Intervalo de confianza para la diferencia				
	Media	Desviación std	Error std de la media	Inferior	Superior			
TGO <i>sin NP1</i> - TGO <i>sin NP2</i>	-6,27	22,00	4,02	-14,48	1,95	-1,560	29	,130
TGP <i>sin NP1</i> - TGP <i>sin NP2</i>	-4,33	9,35	1,71	-7,83	-0,841	-2,538	29	,017
BT <i>sin NP1</i> - BT <i>sin NP2</i>	1,81	2,45	,447	,898	2,73	4,052	29	,000
BD <i>sin NP1</i> - BD <i>sin NP2</i>	-,473	1,86	,339	-1,17	,221	-1,394	29	,174
GGT <i>sin NP1</i> - GGT <i>sin NP2</i>	-22,03	74,38	13,58	-49,81	5,74	-1,622	29	,116

La tabla 16 muestra las comparaciones de medias de muestras relacionadas de cada marcador hepático en el periodo sin nNutrición parenteral (*sin NP*). Se observa que existe una diferencia estadísticamente significativa en los valores de TPG ( $p=0,017$ ) y BT ( $p=0,000$ ) entre los niveles *sin NP*<sub>1</sub> (basales) y niveles *sin NP*<sub>2</sub> ( $7\pm 2$  días) con un intervalo de confianza del 95 % ( $p<0,05$ ). Las diferencias de las medias de los valores de TGO ( $p=0,130$ ), BD ( $p=0,174$ ), GGT ( $p=0,116$ ) no presentan significancia estadística.

**Tabla 17. Estadísticos descriptivos de marcadores hepáticos globales**

	Media	N	Desviación std	Error std. de la media
TGO <i>con NP</i>	28,63	60	13,00	1,68
TGO <i>sin NP</i>	28,73	60	16,36	2,11
TGP <i>con NP</i>	7,37	60	5,10	0,66
TGP <i>sin NP</i>	10,53	60	8,38	1,08
BT <i>con NP</i>	9,03	60	3,40	0,44
BT <i>sin NP</i>	6,36	60	3,91	0,50
BD <i>con NP</i>	,845	60	0,43	0,06
BD <i>sin NP</i>	1,35	60	1,53	0,20
GGT <i>con NP</i>	110,41	60	81,87	10,57
GGT <i>sin NP</i>	128,38	60	75,74	9,78

En la tabla 17 se describe los valores estadísticos descriptivos de los marcadores hepáticos en dos momentos: Con nutrición parenteral (*con NP*) y sin nutrición parenteral (*sin NP*).

**Tabla 18. Correlaciones de marcadores hepáticos globales**



	N	Correlación	Sig.
TGO <i>con NP</i> y TGO <i>sin NP</i>	60	-0,1039	,429
TGO <i>con NP</i> y TGP <i>sin NP</i>	60	-0,1453	,268
BT <i>con NP</i> y BT <i>sin NP</i>	60	0,4809	,000
BD <i>con NP</i> y BD <i>sin NP</i>	60	0,2075	,112
GGT <i>con NP</i> y GGT <i>sin NP</i>	60	0,5396	,000

La tabla 18 muestra las correlaciones de las medias de los marcadores hepáticos entre los periodos *con NP* y *sin NP*. La correlación más intensa es la de GGT (0,5396) entre el periodo *con NP* y *sin NP* presentando una significancia de 0,000 ( $p < 0,005$ ), seguida por la correlación de BT (0,4809) entre el periodo *con NP* y *sin NP* presentando una significancia de 0,000 ( $p < 0,005$ ).

**Tabla 19. Comparaciones de diferencias de medias de marcadores hepáticos globales.**

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
				95 % Intervalo de confianza para la diferencia				
	Media	Desviación std	Error std. de la media	Inferior	Superior			
TGO <i>con NP</i> – TGO <i>sin NP</i>	-0,10	21,93	2,83	-5,76	5,56	-,035	59	,972
TGO <i>con NP</i> – TGO <i>sin NP</i>	-3,17	10,43	1,35	-5,86	-0,47	-2,352	59	,022
BT <i>con NP</i> – BT <i>sin NP</i>	2,67	3,75	0,48	1,70	3,64	5,523	59	,000
BD <i>con NP</i> – BD <i>sin NP</i>	-0,50	1,50	0,19	-0,89	-0,12	-2,595	59	,012
GGT <i>con NP</i> – GGT <i>sin NP</i>	-17,97	75,81	9,79	-37,56	1,61	-1,836	59	,071

La tabla 19 de comparaciones de medias de muestras relacionadas nos muestra la significancia de las diferencias de las medias de cada marcador hepático en el periodo

con nutrición parenteral y sin nutrición parenteral. Se observa que existe diferencia significativa en los valores de TGP ( $p=0,22$ ); BT ( $p=0,000$ ) y BD ( $p=0,012$ ) entre el periodo en que el recién nacido recibe nutrición parenteral y el periodo que no la recibe con un intervalo de confianza del 95 % ( $p<0,05$ ). Por el contrario, las diferencias de las medias de los valores de TGP ( $p=0,972$ ); GGT ( $p=0,071$ ) no presentan significancia.

## V. DISCUSIÓN

- Uno de los hallazgos más importantes de este estudio es la existencia de peróxidos en las mezclas de Nutrición parenteral sean foto expuestas o foto protegidas como lo halló *Lavoie*<sup>5</sup> y *Silvers*<sup>59</sup> en sus estudios previos. A pesar de la presencia de estos compuestos en ambos modelos de estudio, la variación de los peróxidos encontrados en la mezcla de nutrición parenteral (Tabla 2) en los cuatro tiempos sugeridos (0,5,18 y 24 h) es estadísticamente significativa en los periodos de 0-5 horas, 0-18 horas, 5-24 horas y 18-24 horas. Esto contrasta con lo que *Lavoie* encontró en un estudio de diseño similar en donde se hallaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ) en un periodo de tiempo menor. De acuerdo a los resultados encontrados, aparentemente los peróxidos se forman inmediatamente después de preparada la mezcla de nutrientes y tienden a disminuir a las 5 h, luego en el periodo de 5h-18h la variación existe pero no es estadísticamente significativa, caso contrario a lo que sucede en el periodo 18h-24h donde la diferencia es estadísticamente significativa. Según *Lavoie* y *Chessex*<sup>47</sup> esta disminución repentina de la concentración de peróxidos en las mezclas de NP nos puede indicar que estos agentes son contrarrestados por algún nutriente presente en la mezcla que posee actividad antiperoxídica tales como los multivitamínicos. Los autores antes mencionados señalan que esta propiedad se agotaría y enseguida se activaría otra propiedad inductora de peróxidos (otorgada por riboflavina) reaccionando con los peróxidos remanentes y regenerando peróxidos en la mezcla hasta los niveles iniciales. Algunos agentes que se ven afectados por los peróxidos y desencadenan la generación de peróxidos podrían ser los aminoácidos y trazas presentes en la mezcla.
- Los peróxidos existen en cualesquiera de las mezclas de nutrición parenteral como lo determinó *Chessex* y *colaboradores* en el 2002<sup>47</sup>, sin embargo, cuando se analizan mezclas foto protegidas versus foto expuestas en los tiempos 0, 5, 18 y 24 horas se observa que solamente existe una diferencia significativa en el tiempo 18h, contrastando con los resultados de *Lavoie*, quien encontró diferencias significativas sólo hasta las 6 horas. El comportamiento de los peróxidos durante las 24 horas de infusión sólo se evidencia en este estudio, por

ello la dificultad de comparar los niveles de estos agentes con datos provenientes de otros estudios. El hallazgo de haber encontrado diferencia significativa en el tiempo 18h para las condiciones de foto exposición y foto protección nos hace pensar que esta diferencia no es estrictamente verdadera. Tenemos que considerar que las especies reactivas del oxígeno son especies muy lábiles y que su medida y cuantificación por métodos críticos pueden afectar su concentración.

- Es notable que los resultados de los coeficientes de correlación de Pearson elevados para las muestras foto expuestas y foto protegidas en los diferentes tiempos nos indicarían que las mezclas de NP (foto expuestas y foto protegidas) tienen el mismo comportamiento. Según los estudios previos que involucran el análisis de peróxidos en mezclas de nutrición parenteral, estas especies existen y son infundidas al recién nacido.
- En el presente estudio, el trabajo de campo permitió corroborar lo supuesto, sin embargo podemos afirmar que la foto protección o la foto exposición de estas mezclas no afecta la formación de estas especies de manera significativa contrastando con lo encontrado por *Laborie*<sup>14</sup>, en donde se consigna a la luz como principal inductor de peróxidos a la luz en soluciones de NP de adultos.
- *Weinberger*<sup>16</sup> al igual que *Hugues*<sup>15</sup> sugieren en sus hallazgos que los peróxidos infundidos desde la NP al recién nacido podrían ser los generadores de la progresiva disfuncionalidad hepática en el RN; sin embargo, no logran correlacionar todos los marcadores con el daño hepático causado por la NP. Cabe resaltar que estos marcadores son ampliamente utilizados para el control de los posibles efectos adversos de la NP en recién nacidos prematuros que podrían estar afectados no sólo por el posible efecto de la NP, sino también por la enfermedad concomitante, la nutrición enteral (leche materna) adyuvante, estado basal (sepsis), medicamentos hepatotóxicos, etc. Es importante mencionar los resultados obtenidos del coeficiente de correlación de Pearson para todos los marcadores en el periodo *con NP* y *sin NP* en donde se evidencia que no hay correlación significativa en todos los marcadores. Se presume que estos

marcadores podrían no ser las herramientas exactas para determinar el posible efecto negativo de la NP en el RN. Es posible pensar que para el presente estudio estos marcadores no sean el mejor control de efecto nocivo de NP en  $7\pm 2$  días y que además puedan influir otros factores intrínsecos del ser humano en los periodos utilizados ( $7\pm 2$  días de NP y  $7\pm 2$  días de ausencia de NP). En el periodo *con NP* tenemos correlación estadísticamente significativa sólo para la bilirrubina total (BT)  $p=0,023$ ;  $p<0,05$ ; mientras que en el periodo *sin NP* la correlación significativa se encuentra presente para la bilirrubina total (BT), bilirrubina directa (BD) y gamma glutamil transferasa (GGT).

- En las comparaciones de las diferencias de medias de las muestras relacionadas observamos (Tabla 13) sólo variación significativa entre los valores de transaminasas hepáticas (TGO, TGP) y GGT del periodo *con NP* en el tiempo *con NP<sub>1</sub>* (basal) y *con NP<sub>2</sub>* ( $7\pm 2$  días) y encontramos variación significativa en TGP y BT en el periodo *sin NP*. Tomando en consideración estas comparaciones de medias para los dos periodos *con NP* y *sin NP* asumimos que las diferencias encontradas no nos pueden llevar a concluir que las transaminasas hepáticas y GGT se alteran mientras se recibe NP y que TGP y BT se alteran cuando se suspende la NP. Los hallazgos antes mencionados nos indican que en  $7\pm 2$  días el comportamiento hepático es muy vulnerable a cualquier factor interno o externo en el RN por ello la falta de predictibilidad en los marcadores hepáticos que fluctúan de maneras dispersas en ambos periodos. Si la NP fuera un agente de alteración del perfil hepático se encontraría un comportamiento proporcional entre el periodo *con NP* versus el periodo *sin NP* presentando diferencias estadísticamente significativas en ambos periodos para cada marcador.
- Cuando se determina el coeficiente de correlación de Pearson de los marcadores hepáticos del periodo *con NP* versus el periodo *sin NP* se obtiene una correlación significativa sólo en los valores de BT y GGT, sin embargo no podemos pretender hallar correlaciones significativas en todos los marcadores debido a que cada uno probablemente se comporta de diferente manera a través del primer periodo de nacimiento.

- Cuando se comparan las medias de los marcadores hepáticos de forma global se obtiene solamente diferencias significativas en TGP, BT, BD tomando como referencia  $p=0,05$ . Weinberger<sup>16</sup> en su estudio retrospectivo realizado en el 2002 sustenta que las bilirrubinas (BT, BD) no son un buen indicador de daño hepático más si del grado de colestasis que podría sufrir el paciente. En este estudio un efecto colestásico por NP en tan pocos días de administración es imposible a menos de que el paciente este predispuesto, además el propósito del estudio es evaluar el comportamiento hepático en un periodo de NP y sin NP.
- Finalmente podemos concluir que las mezclas de NP sean expuestas o no a la luz presentan concentraciones de peróxidos desde el momento de la mezcla. Estas especies tienen un comportamiento de supresión y de regeneración que varía a través de las 24 horas en que se infunden a un paciente. La foto protección no influye en la formación aumentada de estas especies reactivas del oxígeno debido probablemente que en esta formación influyan otros factores más significativos como por ejemplo mayores concentraciones de inductor de peróxidos (multivitamínicos), aire u otros nutrientes que actúan como quelantes, etc.
- El control de NP especialmente en el recién nacido que es vulnerable por su inmadurez hepática y ausencia de leche materna es crítica siendo la principal motivación del presente estudio junto con la evaluación hepática en el periodo estándar de administración de NP en nuestro hospital. Aparentemente los marcadores bioquímicos hepáticos en este diseño están afectados por otras variables como la enfermedad que cursa el RN, prematuridad, inmadurez del sistema Gastrointestinal y hepático, ausencia de nutrición enteral e infección concomitante que no nos permiten elucidar con claridad el estado hepático del RN que recibe NP. Sin embargo, reforzados por el tratamiento estadístico de nuestro estudio, creemos que el estado bioquímico hepático no se altera en  $7 \pm 2$  días de NP a las concentraciones de cada nutriente administrado en la nutrición parenteral.

## VI. CONCLUSIONES

- Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en TGO, TGP y GGT durante el periodo de administración de nutrición parenteral.
- Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en TGP y BT durante el periodo de ausencia de nutrición parenteral.
- La diferencia entre las medias de los marcadores hepáticos del periodo de administración de NP (*con NP*) y periodo de ausencia de NP (*sin NP*) sólo presenta valores estadísticamente significativos en el caso de TGP, BT y BD.
- El comportamiento de los marcadores hepáticos a través del tiempo en el presente estudio no es simétrico, probablemente por la existencia de otros factores que podrían alterar la funcionalidad hepática.
- Al término del trabajo de campo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de peróxidos en ninguno de los dos grupos (mezclas foto expuestas y mezclas foto protegidas) ni tampoco cuando se comparan el grupo de las mezclas foto protegidas frente al grupo foto expuestas.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Realizar controles de perfil bioquímico hepático por lo menos semanalmente durante la administración de nutrición parenteral.
- Diseñar y ejecutar estudios que involucren periodos de administración prolongados de nutrición parenteral en diferentes condiciones como ausencia de NE y nutrición mixta.
- En futuros estudios relacionar el efecto de las especies reactivas del oxígeno (EROs) con el daño en otros órganos como pulmones, hígado, etc.
- Mantener al RN con terapia nutricional intravenosa el tiempo estrictamente necesario.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Brawley V, Bhatia J, Karp WB.** Hydrogen peroxide generation in a model pediatric parenteral amino acid solution. *Clinical Science Research*. 1993; 85:709–12.
2. **Neuzil J, Darlow BA, Inder TE, Sluis KB, Winterbourn CC, Stocker R.** Oxidation of parenteral lipid emulsion by ambient and phototherapy lights: potential toxicity of routine parenteral feeding. *Journal of Pediatric*. 1995 May;126(5 Pt 1):785-90.
3. **Gebicki S, Gebicki JM.** Formation of peroxides in amino acids and proteins exposed to oxygen free radicals. *The Biochemical Journal*. 1993 Feb 1;289 ( Pt 3):743-9.  
Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1132237/?tool=pubmed>
4. **Bhatia J, Stegink LD, Ziegler EE.** Riboflavin enhances photooxidation of amino acids under simulated clinical conditions. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1983;7:277–9.
5. **Lavoie JC, Bélanger S, Spalinger M, Chessex P.** Admixture of a multivitamin preparation to parenteral nutrition: the major contributor to in vitro generation of peroxides. *Pediatrics* 1997 Mar;99(3):E6.  
Disponible en URL: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/content/full/99/3/e6>
6. **Laborie S, Lavoie JC, Chessex P.** Paradoxical role of ascorbic acid and riboflavin in solutions of total parenteral nutrition: implications in photoinduced peroxide generation. *Pediatric Research* 1998;43: 601–6.
7. **Lunec J.** Free radicals: their involvement in disease process. *Annals in Clinical Biochemistry* 1990 May;27 ( Pt 3):173-82.
8. **Lavoie JC, Lachance C, Chessex P.** Antiperoxide activity of sodium metabisulfite: a double-edged sword. *Biochemical Pharmacology* 1994 Mar 2;47(5):871-6.
9. **Lavoie JC, Bélanger S, Spalinger M, Chessex P.** Admixture of a Multivitamin Preparation to Parenteral Nutrition: The Major Contributor to In Vitro Generation of Peroxides. *Pediatrics*. 1997 Mar;99(3):E6.  
Disponible en URL: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/content/full/99/3/e6>
10. **Harrison GJ, Jordan LR, Willis RJ.** Deleterious effects of hydrogen peroxide on the function and ultrastructure of cardiac muscle and coronary vasculature of perfused rat hearts. *The Canadian Journal of Cardiology* 1994 Oct;10(8):843-9

11. **May JM, de Haën C.** The insulin-like effect of hydrogen peroxide on pathways of lipid synthesis in rat adipocytes. *Journal of Biological Chemistry* 1979 Sep 25;254(18):9017-21.  
Disponible en URL: <http://www.jbc.org/content/254/18/9017.long>
12. **Greenwel P, Dominguez-Rosales JA, Mavi G, Rivas-Estilla M, Rojkin M.** Hydrogen peroxide: a link between acetaldehyde-elicited(1) collagen gene upregulation and oxidative stress in mouse hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2000 Jan;31(1):109-16.  
Disponible en URL: <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/106596637/PDFSTART>
13. **Lavoie JC, Chessex P, Gauthier C, Levy E, Alvarez F, St-Louis P, Rouleau T.** Reduced Bile Flow Associated With Parenteral Nutrition Is Independent of Oxidant Load and Parenteral Multivitamins. *Journal of Paediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005 Jul;41(1):108-14.  
Disponible en URL: <http://journals.lww.com/jpgn/pages/articleviewer.aspx?year=2005&issue=07000&article=00020&type=abstract>
14. **Romeo C, Eaton S, Quant PA, Spitz L, Pierro A.** Neonatal Oxidative Liver metabolism: Effects of Hydrogen Peroxide, a putative mediator of Septic Damage. *Journal of Pediatric Surgery* 1999 Jul;34(7):1107-11
15. **Hughes CA, Talbot IC, Ducker DA, Harran MJ.** Total parenteral nutrition in infancy: effect on the liver and suggested pathogenesis. *Gut*. 1983 Mar;24(3):241-8.  
Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1419927/?tool=pubmed>
16. **Weinberger B, Watorek K, Strauss R, Witz G, Hiatt M, Hegyi T.** Association of lipid peroxidation with hepatocellular injury in preterm infants. *Critical Care* 2002 Dec;6(6):521-5. Epub 2002 Aug 21.  
Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC153431/?tool=pubmed>
17. **Guyton, Hall.** Tratado de Fisiología médica. Décimo primera edición. Editorial S.L.L. Madrid. 2006.
18. **Gomella T, Cunningham M, Eyal F, Zenk K.** Neonatología. 6ta ed. Buenos Aires: Editorial médica Panamericana;2006. p104-10.
19. **Esteller A.** Physiology of bile secretion. *World Journal of Gastroenterology* 2008 Oct 7;14 (37):5641-9.  
Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18837079>
20. **Quintao E, Grundy SM, Ahrens EH Jr.** Effects of dietary cholesterol on the regulation of total body cholesterol in man. *Journal of lipid research* 1971 Mar;12(2):233-4.

Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5108133>

21. **Tenhunen R, Marver HS, Schmid R.** The enzymatic conversion of hemoglobin to bilirubin. Transactions of the association of American physicians. 1969;82:363-71.
22. **Robertson AF, Karp WB, Bunyapen C, Catterton WZ, Davis HC.** Clinical and chemical correlates of the bilirubin-binding capacity in newborns. American journal of diseases of children 1981 Jun;135(6):525-8.
23. **Wolkoff AW, Goresky CA, Sellin J, Gatmaitan Z, Arias IM.** Role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma into liver. Ther American Journal of physiology 1979 Jun;236(6):E638-48.
24. **Wolkoff AW, Ketley JN, Waggoner JG, Berk PD, Jakoby WB.** Hepatic accumulation and intracellular binding of conjugated bilirubin. The Journal of clinical investigation. 1978 Jan;61(1):142-9.
25. **Levi AJ, Gatmaitan Z, Arias IM.** Deficiency of hepatic organic anion-binding protein, impaired organic amnion uptake by liver and "physiologic" jaundice in newborn monkeys. The new England Journal of Medicine. 1970 Nov 19;283(21):1136-9.
26. **Kawade N, Onishi S.** The prenatal and postnatal development of UDP-glucuronyltransferase activity towards bilirubin and the effect of premature birth on this activity in the human liver. The Biochemical Journal. 1981 Apr 15;196(1):257-60.  
Disponible en URL:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1162989/?tool=pubmed>
27. **Menendez A.** Guía para el desarrollo de servicios farmacéuticos: Nutrición Parenteral. Serie Medicamentos Esenciales y tecnología HSE. Requisitos de la UMIV [folleto]. OPS; 1997
28. Apoyo nutricional en patologías pediátricas. Revista Chilena de Pediatría 2002; 73(1):50-65.
29. **Manning R, Washington C.** Chemical stability of total parenteral nutrition mixtures. International Journal of Pharmaceutics 1992;81:1-20
30. **Chaudhari S, Kadam S.** Total Parenteral Nutrition in Neonates. Indian Pediatrics 2006 Nov;43(11):953-64
31. Ministerio de Salud del Perú. Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas Base de Datos PERUDIS. 2005. Informe Técnico N°34-2005
32. **Jasso GL.** Neonatología practica. Nutrición y metabolismo. 5ta edición. México DF: Editorial Manual Moderno; 2002. p165-89.

33. **FELANPE.** Terapia Nutricional Total versión 2.0 Cuarta edición. Sao Paulo. Abbot Laboratories. 2003
34. **Carver JD.** Advances in nutritional modifications of infant formulas. The American Journal of Clinical Nutrition 2003; 77: 1550S-1554S. Disponible en: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>
35. **Lonnerdal B.** Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. The American Journal of Clinical Nutrition 2003; 77: 1537S-1543S. Disponible en: URL: <http://www.ajcn.org/cgi/reprint/77/6/1537S>
36. **Helbock HJ, Motchnik PA, Ames BN.** Toxic hydroperoxides in intravenous lipid emulsions used in preterm infants. Pediatrics. 1993 Jan;91(1):83-7.
37. **Koletzko B, Goulet O, Hunt J, Krohn K, Shamir R.** Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR). Journal of pediatric gastroenterology and nutrition 2005; 41 Suppl 2: S1-S87. Disponible en: URL: [http://journals.lww.com/jpgn/Citation/2005/11002/1\\_Guidelines\\_on\\_Paediatric\\_Parenteral\\_Nutrition.1.aspx](http://journals.lww.com/jpgn/Citation/2005/11002/1_Guidelines_on_Paediatric_Parenteral_Nutrition.1.aspx)
38. **Habib MP, Clements NC.** Effects of low dose hydrogen peroxide in the isolated perfused rat lung. Experimental Lung Research 1995 Jan-Feb;21(1):95-112.
39. **Pitkänen OM, Hallman M, Anderson SM.** Correlation of free oxygen radical-induced lipid peroxidation with outcome in very low birthweight infants. The Journal of Pediatrics 1990 May;116(5):760-4.
40. **Mathru M, Rooney MW, Dries DJ, Hirsch LJ, Barnes L, Tobin MJ.** Urine hydrogen peroxide during adult respiratory distress syndrome in patients with and without sepsis. Chest 1994 Jan;105(1):232-6. Disponible en URL: <http://chestjournal.chestpubs.org/content/105/1/232.long>
41. **Shattuck KE, Bhatia J, Grinnell C, Rassin DK.** The effect of light exposure on the *in vitro* hepatic response to an amino acid-vitamin solution. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 1995 Sep-Oct;19(5):398-402.
42. **Bhatia J, Moslen T, Haque AK, McCleery R, Rassin DK.** Total parenteral nutrition-associated alterations in hepatobiliary function and histology in rats: is light exposure a clue? Pediatric Research 1993 May;33(5):487-92.
43. **Acra SA, Rollins C.** Principles and guidelines for parenteral nutrition in children. Pediatric annals 1999; 28: 113-120

44. **Thureen PJ, Melara D, Fennessey PV, Hay WW Jr.** Effect of low versus high intravenous amino acid intake on very low birth weight infants in the early neonatal period. *Pediatric Research* 2003 Jan;53(1):24-32.  
Disponible en URL: <http://journals.lww.com/pedresearch/pages/articleviewer.aspx?year=2003&issue=01000&article=00008&type=abstract>
45. **Panozzo M et al.** Altered lipid peroxidation/glutathione ratio in experimental extrahepatic cholestasis. *Clinical Experimental Pharmacology & Physiology*. 1995 Apr;22(4):266-71.
46. **Laborie S, Lavoie JC, Pineault M, Chessex P.** Protecting solutions of parenteral nutrition from peroxidation. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 1999 Mar-Apr;23(2):104-8.
47. **Chessex P et al.** Photooxidation of Parenteral Multivitamins Induces Hepatic Steatosis in a Neonatal Guinea Pig Model of Intravenous Nutrition. *Pediatric Research* 2002 Dec;52(6):958-63.  
Disponible en URL: <http://journals.lww.com/pedresearch/pages/articleviewer.aspx?year=2002&issue=12000&article=00023&type=abstract>
48. **Lavoie JC, Chessex P.** Bound iron admixture prevents the spontaneous generation of peroxides in total parenteral nutrition solutions. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 1997 Sep;25(3):307-11.  
Disponible en URL: <http://journals.lww.com/jpgn/pages/articleviewer.aspx?year=1997&issue=09000&article=00011&type=abstract>
49. **Grau T et al.** Liver dysfunction associated with artificial nutrition in critically ill patients. *Critical Care*. 2007;11(1):R10.  
Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2147066/?tool=pubmed>
50. **Tazuke Y, Teitelbaum DH.** Alteration of canalicular transporters in a mouse model of total parenteral nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2009 Feb;48(2):193-202.  
Disponible en URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2633488/?tool=pubmed>
51. **Jonas CR, Ziegler TR.** Nutrient support and antioxidant defenses: a cause for concern?. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1998 Oct;68(4):765-7.  
Disponible en URL: <http://www.ajcn.org/cgi/reprint/68/4/765>
52. **Hasanoğlu A et al.** Free oxygen radical-induced lipid peroxidation and antioxidant infants receiving total parenteral nutrition. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 2005 Aug;73(2):99-102.

53. **Pitkanen O, Hallman, Andersson S.** Generation of free radicals in lipid emulsion used in parenteral nutrition. *Pediatric Research* 1991 Jan;29(1):56-9.
54. **Pironi L.et al.** Peroxidation Potential of Lipid Emulsions in All-in-One Bags. *Nutrition* 2003 Sep;19(9):784-8.
55. **Gebicki S, Gebicki JM.** Formation of peroxides in amino acids and proteins exposed to oxygen free radicals. *The Biochemical Journal* 1993 Feb 1;289 (Pt 3):743-9.  
Disponible en URL:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1132237/?tool=pubmed>
56. **Chessex P, Lavoie JC, Laborie S, Rouleau T.** Parenteral Multivitamin Supplementation Induces Both Oxidant and Antioxidant Responses in the Liver of Newborn Guinea Pigs. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2001 Mar;32(3):316-21.  
Disponible en URL:  
<http://journals.lww.com/jpgn/pages/articleviewer.aspx?year=2001&issue=03000&article=00016&type=abstract>
57. **Lavoie JC, Laborie S, Rouleau T, Spalinger M, Chessex P.** Peroxide-like oxidant response in lungs of newborn guinea pigs following the parenteral infusion of a multivitamin preparation. *Biochemical Pharmacology* 2000 Nov 1;60(9):1297-303.
58. **Laborie S, Lavoie JC, Chessex P.** Increased urinary peroxides in newborn infants receiving parenteral nutrition exposed to light. *The journal of Pediatrics* 2000 May;136(5):628-32.
59. **Silvers KM, Sluis KB, Darlow BA, McGill F, Stocker R, Winterbourn C.** Limiting light-induced lipid peroxidation and vitamin loss in infant parenteral nutrition by adding multivitamin preparations to Intralipid. *Acta Paediatrica* 2001;90:242-9.  
Disponible en URL:  
<http://www3.interscience.wiley.com/journal/119929693/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>
60. **Chessex P, Friel J, Harrison A, Rouleau T, Lavoie JC.** The mode of delivery of parenteral multivitamins influences nutrient handling in an animal model of total parenteral nutrition. *Clinical Nutrition* 2005 Apr;24(2):281-7.
61. **Lavoie JC, Rouleau T, Gagnon C, and Chessex P.** Photoprotection prevents TPN-induced lung procollagen mRNA in newborn guinea pigs. *Free Radical Biology & Medicine*. 2002 Aug 15;33(4):512-20.
62. **Lavoie JC, Rouleau T, Chessex P.** Interaction between ascorbate and light-exposed riboflavin induces lung remodeling. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 2004 Nov;311(2):634-9. Epub 2004 Jul 13.  
Disponible en URL: <http://jpet.aspetjournals.org/content/311/2/634.long>

63. FELANPE. Nutrición parenteral, preparación, estabilidad, incompatibilidades e interacciones. Curso Interdisciplinario de nutrición clínica (C.I.N.C); Bogotá, 2002.p163-76
64. **Duerksen DR et al.** Intravenous ursodeoxycholic acid reduces cholestasis in parenterally fed newborn piglets. *Gastroenterology*. 1996 Oct;111(4):1111-7.
65. **Laborie S, Lavoie JC, Pineault M, Chessex P.** Contribution of Multivitamins, Air, and Light in the Generation of Peroxides in Adult and Neonatal Parenteral Nutrition Solutions. *The Annals of Pharmacotherapy* 2000 Apr;34(4):440-5.
66. **Kim H, Kirschenbaum LJ, Rosenthal I, Riesz P.** 1993 Photosensitized formation of ascorbate radicals by riboflavin: an ESR study. *Photochemistry and photobiology*. 1993 May;57(5):777-84.
67. **Yu VY.** Extrauterine growth restriction in preterm infants: importance of optimizing nutrition in neonatal intensive care units. *Croatian Medical Journal* 2005 Oct;46(5):737-43.  
Disponible en URL: <http://www.cmj.hr/2005/46/5/16158465.pdf>
68. **José Botella Llusá, José A. Clavero Núñez.** Tratado de Ginecología décimo cuarta edición.1993
69. **Villanueva ME.** Patología perinatal. Pontificia Universidad Católica de Chile. 2006
70. **Erlinger S.** Mechanisms of hepatic transport and bile secretion. *Acta Gastroenterol Belg*. 1996 Apr-Jun;59(2):159-62.  
Disponible en URL:  
<http://physiologyonline.physiology.org/cgi/content/full/15/2/89>
71. **Silverman et al.** Committee on fetus and newborn. Nomenclature for duration of gestation, birth weight and intra-uterine growth. *Pediatrics*. 1967 Jun;39(6): 935-9.  
Disponible en URL:  
<http://pediatrics.aappublications.org/cgi/reprint/39/6/935?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=classification+newborn&searchid=1&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&resourcetype=HWCIT>
72. **Li M.** The role of aluminum in parenteral nutrition associated cholestasis in infants and piglets. (Tesis de maestría). Saskatchewan, Australia: Universidad de Saskatchewan;2005.

# **ANEXOS**

---



## ANEXO 1

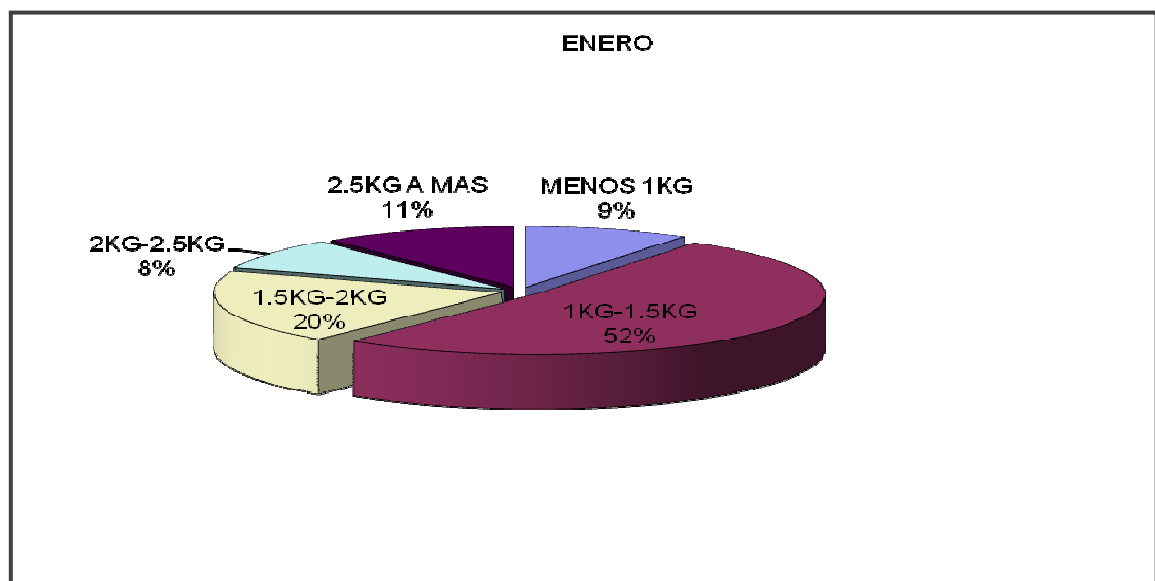
### Concentración de peróxidos en muestra estándar para curva de calibración

ESTÁNDAR			
Concentración μlitros	Concentración μmoles x litro	Concentración Volumen SM	Lectura
10	23,9108		0,089
15	35,8662		0,124
20	47,8216		0,168
25	59,777		0,206
30	71,7324		0,218
40	95,6432		0,339
50	119,5541		0,476
60	143,4649		0,517

## ANEXO 2

### Estudio de la población y determinación del grupo de estudio

	<i>MENOS 1KG</i>	<i>1KG-1,5KG</i>	<i>1,5KG-2KG</i>	<i>2KG-2,5KG</i>	<i>2,5KG A MAS</i>
<i>ENERO</i>	22	123	47	20	26



## ANEXO 3

### Concentración milimolar de peróxidos presentes en mezclas de nutrición parenteral foto expuestas y foto protegidas (n=31)

FOTOEXPUESTA (concentración milimoles)					FOTOPROTEGIDA (concentración milimoles)			
	0H	5H	18H	24H	0H	5H	18H	24H
1	188,889	120,556	204,444	213,334	221,111	202,778	200,554	212,222
2	184,444	185,000	261,667	268,333	188,889	190,556	287,778	329,444
3	154,444	202,222	228,889	283,333	147,222	192,778	217,778	310,000
4	666,667	396,667	572,220	781,112	730,000	363,333	544,444	932,220
5	778,889	555,556	638,888	825,556	455,556	210,000	307,778	686,668
6	505,556	485,000	445,556	501,111	475,556	484,444	440,000	490,556
7	487,222	495,556	446,667	470,556	478,889	500,000	453,334	447,222
8	262,224	106,667	121,112	291,111	313,332	122,222	124,444	283,333
9	375,556	194,444	181,111	324,444	344,444	215,556	176,668	348,889
10	371,112	142,224	147,776	302,222	413,332	102,220	200,000	365,556
11	304,444	57,778	184,444	332,222	277,776	70,000	141,111	243,333
12	523,333	68,888	148,889	173,333	307,778	38,889	110,000	62,224
13	383,332	107,778	237,778	184,444	333,332	94,444	202,222	135,556
14	188,888	83,333	203,332	152,222	257,776	75,556	137,778	76,667
15	71,112	60,000	174,444	197,778	111,112	55,556	134,444	136,667
16	107,776	68,889	165,556	276,667	67,776	60,000	114,444	148,889
17	73,332	80,000	187,776	265,556	120,000	78,889	158,889	160,000
18	128,889	61,111	170,000	205,556	121,111	81,111	124,444	171,111
19	170,000	52,222	130,000	118,889	164,444	40,000	133,333	143,333
20	292,222	50,000	237,776	187,778	202,224	57,778	147,778	91,111
21	356,667	146,667	231,112	230,000	387,776	208,889	222,222	264,444
22	158,889	14,444	133,332	170,000	95,556	26,668	72,224	132,224
23	213,333	75,556	153,332	204,444	180,000	83,333	128,889	183,333
24	171,111	67,778	128,888	200,000	181,111	66,667	70,000	157,776
25	277,778	107,776	143,332	333,333	290,000	153,332	221,112	464,444
26	300,000	254,444	175,556	194,444	278,888	121,111	95,556	173,332
27	364,444	185,556	161,112	330,000	353,333	137,776	118,889	238,888
28	264,444	67,776	90,000	250,000	232,224	70,000	83,332	120,000
29	401,111	90,000	86,667	175,556	313,332	106,668	131,112	191,112
30	227,776	68,888	86,668	182,224	258,888	62,222	62,224	117,776
31	342,224	155,556	122,222	195,556	315,556	137,778	122,224	197,778

## ANEXO 4

### Valores de marcadores hepáticos medidos en recién nacidos durante la administración de nutrición parenteral (n=30).

	Con nutrición parenteral									
Paciente N°	1er control( Niveles basales)					2do control (niveles a los 7+- 2 días)				
	TGO	TGP	BT	BD	GGTP	TGO	TGP	BT	BD	GGTP
valores normales	0-37 UI	0-41 UI	0.1-1.2 UI	<20% BT > 2 UI	10-71 UI	0-37 UI	0-41 UI	0.1-1.2 UI	<20% BT > 2 UI	10-71 UI
1	39,00	10,00	10,83	0,93	105,00	35,00	9,00	12,68	0,73	105,00
2	50,00	9,00	8,96	0,83	116,00	28,00	5,00	8,91	0,51	80,00
3	46,00	16,00	10,50	0,88	89,00	18,00	6,00	2,39	0,73	104,00
4	24,00	8,00	10,66	1,06	178,00	22,00	5,00	9,38	1,04	241,00
5	59,00	3,00	7,63	0,49	97,00	15,00	2,00	9,27	0,81	42,00
6	26,00	14,00	11,70	0,82	1,67	25,00	5,00	11,89	2,25	501,00
7	20,00	7,00	16,69	2,39	93,00	30,00	8,00	9,99	1,40	158,00
8	71,00	8,00	5,24	0,33	29,00	15,00	1,00	7,24	0,74	39,00
9	34,00	4,00	8,69	0,61	71,00	50,00	12,00	8,21	0,93	80,00
10	35,00	9,00	13,10	0,68	99,00	30,00	17,00	10,43	0,79	115,00
11	31,00	5,00	6,31	0,63	96,00	26,00	5,00	14,30	0,94	60,00
12	44,00	12,00	11,00	0,55	122,00	17,00	1,00	11,98	1,40	122,00
13	27,00	4,00	12,61	0,71	81,00	36,00	11,00	18,36	0,61	81,00
14	26,00	3,00	2,53	0,47	134,00	17,00	5,00	0,28	0,01	240,00
15	40,00	4,00	12,11	0,79	67,00	28,00	5,00	6,68	0,83	50,00
16	33,00	12,00	6,06	1,06	68,00	23,00	2,00	9,58	0,91	100,00
17	33,00	10,00	5,91	0,55	72,00	13,00	9,00	4,53	0,82	35,00
18	27,00	3,00	11,86	0,84	237,00	21,00	4,00	11,86	1,50	270,00
19	23,00	15,00	6,67	0,73	29,00	44,00	6,00	7,45	0,03	57,00
20	25,00	7,00	10,59	0,72	54,00	22,00	4,00	8,74	0,81	50,00
21	34,00	6,00	8,29	0,51	151,00	20,00	3,00	7,31	0,97	175,00
22	15,00	3,00	5,67	0,72	69,00	16,00	2,00	6,57	0,72	89,00
23	10,00	21,00	8,98	0,75	53,00	20,00	3,00	8,42	0,65	88,00
24	59,00	10,00	6,21	0,74	133,00	30,00	7,00	7,47	0,51	294,00
25	25,00	3,00	11,26	0,70	110,00	13,00	7,00	12,15	0,92	197,00
26	14,00	8,00	11,60	1,75	85,00	12,00	8,00	2,98	0,91	79,00
27	35,00	9,00	7,83	0,73	47,00	22,00	14,00	11,64	0,83	121,00
28	46,00	29,00	11,83	0,57	50,00	47,00	7,00	10,82	0,96	249,00
29	23,00	6,00	10,31	0,48	96,00	18,00	2,00	7,91	2,01	70,00
30	16,00	6,00	8,41	0,67	63,00	15,00	3,00	2,47	0,72	37,00

## ANEXO 5

### Valores de marcadores hepáticos medidos en recién nacidos en ausencia de nutrición parenteral (n=30).

	Sin nutrición parenteral									
Paciente N°	1er control (niveles basales)					2do control (niveles a los 7+- 2 días)				
	TGO	TGP	BT	BD	GGTP	TGO	TGP	BT	BD	GGTP
valores normales	0-37 UI	0-41 UI	0.1-1.2 UI	<20% BT > 2 UI	10-71 UI	0-37 UI	0-41 UI	0.1-1.2 UI	<20% BT > 2 UI	10-71 UI
1	35,00	9,00	12,68	0,73	105,00	22,00	3,00	8,79	0,94	195,00
2	24,00	6,00	2,13	1,03	87,00	80,00	13,00	1,54	0,71	398,00
3	25,00	5,00	1,94	0,72	132,00	31,00	11,00	1,53	0,57	77,00
4	22,00	5,00	9,38	1,04	241,00	28,00	6,00	8,40	0,72	152,00
5	25,00	6,00	4,29	2,67	63,00	78,00	19,00	5,80	3,76	89,00
6	33,00	22,00	4,08	1,02	175,00	24,00	13,00	3,46	1,81	262,00
7	30,00	8,00	9,99	1,40	158,00	23,00	10,00	6,70	2,07	204,00
8	30,00	9,00	3,92	2,72	56,00	103,00	34,00	3,78	2,91	91,00
9	50,00	12,00	8,21	0,93	80,00	25,00	7,00	7,73	0,86	53,00
10	30,00	17,00	10,43	0,79	115,00	42,00	18,00	6,70	0,72	117,00
11	42,00	10,00	9,52	1,26	172,00	12,00	6,00	2,14	1,14	106,00
12	17,00	1,00	11,98	1,40	122,00	24,00	4,00	7,72	1,24	105,00
13	36,00	11,00	18,36	0,61	81,00	32,00	8,00	12,86	0,74	91,00
14	17,00	5,00	0,28	0,01	240,00	26,00	14,00	0,64	0,33	364,00
15	16,00	3,00	2,26	0,69	31,00	20,00	18,00	1,82	0,77	47,00
16	23,00	2,00	9,58	0,91	100,00	20,00	23,00	6,95	1,15	115,00
17	22,00	7,00	3,97	0,65	28,00	20,00	6,00	4,18	0,70	23,00
18	27,00	23,00	5,12	2,79	206,00	36,00	17,00	5,02	3,43	220,00
19	19,00	3,00	4,46	0,72	69,00	30,00	20,00	2,26	0,83	144,00
20	22,00	4,00	8,74	0,81	50,00	19,00	22,00	3,04	0,58	37,00
21	20,00	3,00	7,31	0,97	175,00	19,00	6,00	8,47	0,85	246,00
22	26,00	2,00	5,20	0,65	81,00	19,00	4,00	3,13	0,79	87,00
23	20,00	3,00	8,42	0,65	88,00	16,00	1,00	3,25	0,74	100,00
24	25,00	28,00	9,22	1,10	174,00	38,00	43,00	11,92	1,21	170,00
25	13,00	7,00	12,15	0,92	197,00	20,00	10,00	9,08	0,70	151,00
26	15,00	14,00	2,43	0,97	60,00	19,00	6,00	1,54	0,69	98,00
27	22,00	14,00	11,64	0,83	121,00	23,00	4,00	7,14	0,85	105,00
28	21,00	9,00	12,09	1,01	167,00	24,00	12,00	9,02	11,07	120,00
29	31,00	1,00	6,87	2,78	58,00	64,00	14,00	8,05	4,22	150,00
30	30,00	2,00	1,31	0,62	89,00	19,00	9,00	0,90	0,48	65,00

## **ANEXO 6**

### **Material foto protector para mezclas de nutrición parenteral**



## **ANEXO 7**

### **Mezclas de Nutrición parenteral foto expuestas**



## **ANEXO 8**

### **Toma de muestra de mezclas de nutrición parenteral foto expuestas y foto protegidas**

